

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 870 533**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6806 (2008.01)

C12Q 1/6809 (2008.01)

C12Q 1/6869 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.12.2010 E 18160303 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.02.2021 EP 3382037**

54 Título: **Métodos de determinación de la fracción de ácidos nucleicos fetales en muestras maternas**

30 Prioridad:

19.01.2010 US 296358 P

01.07.2010 US 360837 P

26.10.2010 US 455849 P

26.10.2010 US 407017 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.10.2021

73 Titular/es:

VERINATA HEALTH, INC. (100.0%)

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122, US

72 Inventor/es:

RAVA, RICHARD P.;

CHUU, YUE-JEN;

CHINNAPPA, MANJULA;

COMSTOCK, DAVID A.;

HEILEK, GABRIELLE y

HUNKAPILLER, MICHAEL

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 870 533 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos de determinación de la fracción de ácidos nucleicos fetales en muestras maternas

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a métodos de determinación de la fracción de ácido nucleico fetal sin células que circula en una muestra materna.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las pruebas prenatales invasivas son potencialmente perjudiciales para la madre y para el feto. Por lo tanto, existe una necesidad de desarrollar pruebas prenatales no invasivas. La sangre materna puede contener células fetales (véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente de EE. UU. N° 20080070792) y ADN fetal sin células (véase, por ejemplo, Huang et al. (2008), *Methods in Molecular Biology*, 444:203-208). Mientras que las células fetales circulantes presentan una diana atractiva para diagnósticos prenatales no invasivos, particularmente para el diagnóstico del sexo fetal y las anomalías cromosómicas por cariotipado simple, la escasez de células fetales intactas en la circulación materna (alrededor de una célula por mL de sangre materna), la baja eficiencia de enriquecimiento (Bianchi et al., *Am J Hum Genet* 61:822-829 [1997]) y las dificultades con los análisis cromosómicos asociados con núcleos anormalmente densos en algunas células (Babochkina et al., *Haematologica* 90:740-745 [2005]) han favorecido la investigación en ADN sin células.

El establecimiento de las concentraciones de ADN sin células (ADNsc) fetal en plasma materno en mujeres embarazadas sanas ha formado la plataforma en la que se pueden estudiar las anomalías del ADN fetal en trastornos asociados al embarazo. Se ha mostrado que el descubrimiento de un aumento gradual en la concentración de ADN fetal en suero materno a medida que avanza la gestación precede a complicaciones asociadas al parto prematuro. También se ha encontrado un aumento de cinco veces en la concentración de ADN fetal en el suero obtenido de mujeres afectadas por preeclampsia. Otros trastornos relacionados con el embarazo que se han asociado a una concentración elevada de ADNsc incluyen hiperemesis gravídica (intensas náuseas del embarazo), placentación invasiva (en la que la placenta se pone en contacto con la circulación sanguínea materna), restricción del crecimiento intrauterino, hemorragia feto-materna y polihidramnios (Wright C.F. y Burton H., *Human Reproduction Update* 15(1):139-151 [2009]).

El análisis cuantitativo de ADN sin células por estrategias de PCR en tiempo real también ha indicado que las concentraciones de ADN fetal circulatorio son elevadas en embarazos con aneuploidías fetales, sobre todo trisomía 21 (Lo et al., *Clin Chem* 45:1747-1751 [1999]). Sin embargo, la fracción de ADN fetal en ADN sin células de plasma materno se determina normalmente comparando la cantidad de locus específico del feto (tal como el locus SRY en el cromosoma Y en embarazo de niña) con el de un locus en cualquier autosoma que es común a tanto la madre como al feto usando PCR cuantitativa en tiempo real (Dahllan et al., *Lancet* 369:474-481 [2007]; Li et al., *Clin Chem* 1002-1011 [2004]; Fan et al., *Proc Natl Acad Sci* 105:16266-16271 [2008]).

El documento de patente WO 2011/057094 enseña el análisis genómico fetal de una muestra materna biológica. Chiu et al. (*Trends in Genetics* 2009, vol. 25, N° 7, páginas 324-331) enseña un diagnóstico prenatal no invasivo por tecnologías de recuento de una sola molécula.

Existe una necesidad de métodos adicionales que permitan la determinación de la fracción de ácido nucleico fetal en tanto embarazos de niño como de niña.

El método de la invención cumple la necesidad de proporcionar los medios para determinar la fracción fetal que es independiente del sexo del feto. El método se puede aplicar para determinar simultáneamente la presencia o ausencia de una aneuploidía cromosómica u otra variación del número de copias, y se puede usar junto con cualquier método conocido que se usa para determinar aneuploidías en una muestra materna.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La invención proporciona un método de determinación de la fracción de ácidos nucleicos fetales en una muestra materna que comprende una mezcla de ADN genómico fetal y materno, como se define en las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, el al menos un sitio de SNP es un sitio de SNP único seleccionado de rs560681, rs1109037, rs9866013, rs13182883, rs13218440, rs7041158, rs740598, rs10773760, rs4530059, rs7205345, rs8078417, rs576261, rs2567608, rs430046, rs9951171, rs338882, rs10776839, rs9905977, rs1277284, rs258684, rs1347696, rs508485, rs9788670, rs8137254, rs3143, rs2182957, rs3739005 y rs530022. En otras realizaciones, el al menos un sitio de SNP es un sitio de SNP en tándem seleccionado de los pares de SNP en tándem rs7277033-rs2110153; rs2822654-rs1882882; rs368657-rs376635; rs2822731-rs2822732; rs1475881-rs7275487; rs1735976-rs2827016; rs447340-rs2824097; rs418989- rs13047336; rs987980- rs987981; rs4143392- rs4143391; rs1691324- rs13050434; rs11909758-rs9980111; rs2826842-rs232414; rs1980969-rs1980970; rs9978999-rs9979175; rs1034346-rs12481852; rs7509629-rs2828358; rs4817013-rs7277036; rs9981121-rs2829696; rs455921-rs2898102; rs2898102- rs458848; rs961301-rs2830208; rs2174536-rs458076; rs11088023-rs11088024; rs1011734-rs1011733; rs2831244-rs9789838;

rs8132769-rs2831440; rs8134080-rs2831524; rs4817219-rs4817220; rs2250911-rs2250997; rs2831899-rs2831900; rs2831902-rs2831903; rs11088086-rs2251447; rs2832040-rs11088088; rs2832141-rs2246777; rs2832959 - rs9980934; rs2833734-rs2833735; rs933121-rs933122; rs2834140-rs12626953; rs2834485-rs3453; rs9974986-rs2834703; rs2776266-rs2835001; rs1984014-rs1984015; rs7281674-rs2835316; rs13047304-rs13047322; rs2835545-rs4816551; rs2835735-rs2835736; rs13047608-rs2835826; rs2836550-rs2212596; rs2836660-rs2836661; rs465612-rs8131220; rs9980072-rs8130031; rs418359-rs2836926; rs7278447-rs7278858; rs385787-rs367001; rs367001-rs386095; rs2837296-rs2837297; y rs2837381-rs4816672.

En el presente documento también se desvela una composición para determinar la fracción de ADNsc fetal en una muestra materna por secuenciación masiva en paralelo del ADNsc fetal y materno en la muestra materna, por ejemplo, una muestra de plasma, en donde la composición comprende al menos un conjunto de cebadores para amplificar al menos un ácido nucleico polimórfico en dicha mezcla.

En el presente documento también se desvela un kit que comprende la composición descrita anteriormente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1** es un diagrama de flujo de un método 100 para determinar la fracción fetal en una muestra de prueba materna que comprende una mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos usando métodos de secuenciación masiva en paralelo o separación por tamaño de secuencias de ácidos nucleicos polimórficas.

La **Figura 2** es un diagrama de barras que muestra la identificación de secuencias polimórficas fetales y maternas (SNP) usadas para determinar la fracción fetal en una muestra de prueba. Se muestran el número total de lecturas de secuencia (eje Y) cartografiadas con las secuencias de SNP identificadas por números rs (eje X), y el nivel relativo de ácidos nucleicos fetales (*).

La **Figura 3** es un diagrama de flujo que resume realizaciones alternativas del método para determinar la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo mostrada en la **Figura 1**.

La **Figura 4** ilustra marcadores de STR usados en el kit de amplificación por PCR AmpF Φ STR Φ Identifier Φ .

La **Figura 5** ilustra marcadores de STR usados en el kit de amplificación por PCR AmpF Φ STR Φ Identifier Φ .

La **Figura 6** ilustra la correlación de fracción fetal determinada por separación por tamaño por secuenciación masiva en paralelo de secuencias polimórficas que comprenden SNP y STR.

La **Figura 7** ilustra una realización de uso de fracción fetal para determinar los umbrales de corte para la detección de aneuploidía.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención proporciona métodos de determinación de la fracción de ácidos nucleicos fetales en una muestra materna que comprende una mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos. Se puede usar la fracción de ácidos nucleicos fetales en la determinación de la presencia o ausencia de aneuploidía fetal.

La invención es como se explica en las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se indique lo contrario, la práctica de la presente invención implica técnicas convencionales comúnmente usadas en biología molecular, microbiología, purificación de proteínas, ingeniería de proteínas, secuenciación de proteínas y de ADN, y campos de ADN recombinante, que están dentro de la experiencia de la técnica. Dichas técnicas son conocidas por los expertos en la técnica y se describen en numerosos textos estándar y trabajos de referencia.

Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo. Se pretende que cada limitación numérica máxima dada en toda esta memoria descriptiva incluya cada limitación numérica más baja, como si dichas limitaciones numéricas más bajas se escribieran explícitamente en el presente documento. Cada limitación numérica mínima dada en toda esta memoria descriptiva incluirá cada limitación numérica más alta, como si dichas limitaciones numéricas más altas se escribieran explícitamente en el presente documento. Cada intervalo numérico dado en toda esta memoria descriptiva incluirá cada intervalo numérico más estrecho que entra dentro de dicho intervalo numérico más ancho, como si dichos intervalos numéricos más estrechos se escribieran todos explícitamente en el presente documento.

DEFINICIONES

Como se usa en el presente documento, los términos en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen la referencia en plural, a menos que el contexto indique claramente de otro modo. A menos que se indique lo contrario, los ácidos nucleicos se escriben de izquierda a derecha en la orientación 5' a 3' y las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en la orientación de amino a carboxi, respectivamente.

Como se usa en el presente documento, los términos en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen la referencia en plural, a menos que el contexto indique claramente de otro modo. A menos que se indique lo contrario, los ácidos nucleicos se escriben de izquierda a derecha en la orientación 5' a 3' y las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en la orientación de amino a carboxi, respectivamente.

- 5 El término "porción", cuando se usa en referencia a la cantidad de información de secuencias de moléculas de ácidos nucleicos fetales y maternos en una muestra biológica, se refiere en el presente documento a la cantidad de información de secuencias de moléculas de ácidos nucleicos fetales y maternos en una muestra biológica que en suma ascienden a menos que la información de secuencias de <1 genoma humano.

- 10 Los términos "polinucleótido", "ácido nucleico" y "moléculas de ácidos nucleicos" se usan indistintamente y se refieren a una secuencia de nucleótidos covalentemente unida (es decir, ribonucleótidos para ARN y desoxirribonucleótidos para ADN) en la que la posición 3' de la pentosa de un nucleótido se une por un grupo fosfodiéster a la posición 5' de la pentosa del siguiente, incluyen secuencias de cualquier forma de ácido nucleico, que incluyen, pero no se limitan a, moléculas de ARN, ADN y ADNsc. El término "polinucleótido" incluye, sin limitación, polinucleótido mono- y bicatenario.

- 15 El término "variación del número de copias" en el presente documento se refiere a la variación en el número de copias de una secuencia de ácidos nucleicos que tiene 1 kb o más presente en una muestra de prueba en comparación con el número de copias de la secuencia de ácidos nucleicos presente en una muestra idónea. Una "variante del número de copias" se refiere a la secuencia de ácido nucleico de 1 kb o más en la que las diferencias en el número de copias se encuentran por comparación de una secuencia de interés en la muestra de prueba con la presente en una muestra idónea. Las variantes/variaciones del número de copias incluyen delecciones, que incluyen microdelecciones, inserciones, que incluyen microinserciones, duplicaciones, multiplicaciones, inversiones, translocaciones y variantes multisitio complejas. Las CNV engloban aneuploidías cromosómicas y aneuploidías parciales.

- 20 Como se usa en el presente documento, el término "fracción fetal" se usa indistintamente con "fracción de ácido nucleico fetal", que se refiere a la fracción de ácido nucleico fetal en una muestra que comprende ácido nucleico fetal y materno. Similarmente, el término "fracción secundaria" o "componente secundario" en el presente documento se refiere a la menor fracción del material genético total que está presente en una muestra que contiene material genético derivado de fuentes separadas, por ejemplo, individuos.

- 30 Como se usa en el presente documento, el término "alelo" se refiere a una forma específica de una secuencia genética (tal como un gen) dentro de una célula, una muestra, un individuo o dentro de una población, diferenciándose la forma específica de otras formas del mismo gen en la secuencia de al menos un sitio de variante, y frecuentemente más de uno, dentro de la secuencia del gen. Las secuencias en estos sitios de variante que se diferencian entre alelos diferentes se llaman "variantes", "polimorfismos" o "mutaciones". En general, el polimorfismo se usa para referirse a variantes que tienen una frecuencia de al menos el 1 % en una población, mientras que el término mutación se usa, en general, para variantes que ocurren en una frecuencia de menos del 1 % en una población. En organismos diploides tales como los seres humanos, en cada localización cromosómica específica autosómica o "locus", un individuo posee dos alelos, uno primero heredado de un padre y uno segundo heredado del otro padre, por ejemplo, uno de la madre y uno del padre. Un individuo es "heterocigótico" en un locus si tiene dos alelos diferentes en el locus. Un individuo es "homocigótico" en un locus si tiene dos alelos idénticos en ese locus.

- 40 El término "enriquecer" en el presente documento se refiere al proceso de amplificación de ácidos nucleicos diana polimórficos contenidos en una porción de una muestra materna, y combinación del producto amplificado con el resto de la muestra materna de la que se retiró la porción.

- 45 Como se usa en el presente documento, el término "genotipado" se refiere a la determinación de la información genética que un individuo lleva en una o más posiciones en el genoma. Por ejemplo, el genotipado puede comprender la determinación de qué alelo o alelos tiene un individuo para un solo SNP o la determinación de qué alelo o alelos tiene un individuo para una pluralidad de SNP. Por ejemplo, un nucleótido particular en un genoma puede ser una T en algunos individuos y una C en otros individuos. Los individuos que tienen una T en la posición tienen el alelo T y los que tienen una C tienen el alelo C. En un organismo diploide, el individuo tendrá dos copias de la secuencia que contiene la posición polimórfica, por lo que el individuo puede tener un alelo T y un alelo C, o alternativamente dos copias del alelo T o dos copias del alelo C. Los individuos que tienen dos copias del alelo C son homocigóticos para el alelo C, los individuos que tienen dos copias del alelo T son homocigóticos para el alelo T, y los individuos que tienen una copia de cada alelo son heterocigóticos. Los alelos se denominan frecuentemente el alelo A, frecuentemente el alelo principal, y el alelo B, frecuentemente el alelo secundario. Los genotipos pueden ser AA (A homocigótico), BB (B homocigótico) o AB (heterocigótico). Los métodos de genotipado proporcionan, en general, la identificación de la muestra como AA, BB o AB.

- 55 Como se usa en el presente documento, el término "cromosoma" se refiere al portador del gen que lleva la herencia de una célula viva que deriva de cromatina y que comprende ADN y componentes de proteína (especialmente histonas). En el presente documento se emplea el sistema de numeración convencional internacionalmente reconocido de cromosomas del genoma humano individual. El tamaño de un cromosoma individual puede variar de un tipo a otro con un genoma multi-cromosómico dado y de un genoma a otro. En el caso del genoma humano, toda la masa de ADN de un cromosoma dado es normalmente superior a aproximadamente 100.000.000 pb. Por ejemplo, el tamaño

de todo el genoma humano es aproximadamente 3×10^9 pb. El cromosoma más grande, el cromosoma N° 1, contiene aproximadamente $2,4 \times 10^8$ pb, mientras que el cromosoma más pequeño, el cromosoma N° 22, contiene aproximadamente $5,3 \times 10^7$ pb.

5 El término "aneuploidía" en el presente documento se refiere a la aparición de uno o más cromosomas adicionales o que faltan.

Como se usa en el presente documento, el término "región cromosómica" es una porción de un cromosoma. Puede variar enormemente el tamaño físico o grado actual de cualquier región cromosómica individual. El término "región" no es necesariamente definitivo de uno o más genes particulares debido a que una región no necesita tener en cuenta específicamente los segmentos codificantes particulares (exones) de un gen individual.

10 Como se usa en el presente documento, el término "marcador genético" se refiere a una secuencia de ADN que tiene una localización específica en un cromosoma que se puede medir en un laboratorio. El término "marcador genético" también se puede usar para referirse a, por ejemplo, un ADNc y/o un ARNm codificado por una secuencia genómica, así como a esa secuencia genómica. Para ser útil, un marcador necesita tener dos o más alelos o variantes. Los marcadores pueden ser o directos, es decir, situados dentro del gen o locus de interés (es decir, gen candidato), o indirectos, es decir, estrechamente asociados con el gen o locus de interés (supuestamente debido a una localización que está próxima, pero no dentro del gen o locus de interés). Además, los marcadores también pueden incluir secuencias que modifican o no modifican la secuencia de aminoácidos de un gen.

20 Como se usa en el presente documento, el término "muestra materna" se refiere a una muestra biológica obtenida de un sujeto embarazado, y comprende una mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos. Un "sujeto embarazado" no se limita a un ser humano, pero también puede incluir otros organismos que incluyen, pero no se limitan a, mamíferos, plantas, bacterias o células derivadas de cualquiera de los anteriores.

25 El término "amplificación de genoma completo" o "WGA", como se usa en el presente documento, se refiere, en general, a un método de amplificación de una muestra de ADN limitada en un modo no específico, para generar una nueva muestra que no es distinguible de la original, pero con una concentración de ADN más alta. La técnica ideal de amplificación de genoma completo amplificaría una muestra hasta un nivel de microgramo, mientras se mantiene la representación de secuencia original. El ADN de la muestra puede incluir un genoma completo o una porción del mismo. La PCR cebada con oligonucleótidos degenerados (DOP), la técnica de PCR de extensión con cebadores (PEP) que incluye preamplificación por extensión con cebadores mejorados modificados (mIPEP) y la amplificación por desplazamiento múltiple (MDA) son ejemplos de métodos de amplificación de genoma completo.

30 El término "repeticón en tándem corta" o "STR", como se usa en el presente documento, se refiere a una clase de polimorfismos que ocurre cuando se repite un patrón de dos o más nucleótidos y las secuencias repetidas están directamente adyacentes entre sí. El patrón puede variar en longitud desde 2 hasta 10 pares de bases (pb) (por ejemplo, (CATG)_n en una región genómica) y normalmente está en la región de intrón no codificante. Examinando varios loci de STR y contando cuántas repeticiones de una secuencia de STR específica existen en un locus dado, es posible crear un perfil genético único de un individuo.

35 El término "cebador", como se usa en el presente documento, se refiere a un oligonucleótido aislado que es capaz de actuar como punto de inicio de la síntesis cuando se pone en condiciones en las que se induce la síntesis de un primer producto de extensión de cebador que es complementario a una cadena de ácido nucleico (es decir, en presencia de nucleótidos y un agente inductor tal como ADN polimerasa y a una temperatura adecuada y pH). El cebador es preferentemente monocatenario para la máxima eficiencia en la amplificación, pero alternativamente puede ser bicatenario. Si es bicatenario, el cebador se trata primero separando sus cadenas antes de ser usado para preparar los productos de extensión. Preferentemente, el cebador es un oligodesoxirribonucleótido. El cebador debe ser suficientemente largo para cebat la síntesis de productos de extensión en presencia del agente inductor. Las longitudes exactas de los cebadores dependerán de muchos factores, que incluyen la temperatura, la fuente de cebador, el uso del método y los parámetros usados para el diseño del cebador, como se desvela en el presente documento.

40 El término "par de cebadores" o "conjunto de cebadores" se refiere a un conjunto de cebadores que incluyen un cebador 5' "en la dirección 5'" o "cebador directo" que se hibrida con el complemento del extremo 5' de la secuencia de ADN que se va a amplificar y un cebador 3' "en la dirección 3'" o "cebador inverso" que se hibrida con el extremo 3' de la secuencia que se va a amplificar. Como se reconocerá por los expertos en la técnica, los términos "en la dirección 5'" y "en la dirección 3'" o "directo" e "inverso" no pretenden ser limitantes, sino que proporcionan orientación ilustrativa en realizaciones particulares. Se dice que un par de cebadores es "único" si se puede emplear para amplificar específicamente una secuencia de nucleótidos diana particular en una mezcla de amplificación dada.

45 El término "marcador polimórfico" o "sitio polimórfico" es un locus en el que ocurre la divergencia de la secuencia de nucleótidos. El locus puede ser tan pequeño como un par de bases. Los marcadores ilustrativos tienen al menos dos alelos, ocurriendo cada uno en una frecuencia superior al 1 %, y más normalmente superior al 10 % o 20 % de una población seleccionada. Un sitio polimórfico puede ser tan pequeño como un par de bases. Los marcadores polimórficos incluyen polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), número variable de repeticiones en tándem (VNTR), regiones hipervariables, minisatélites, repeticiones de dinucleótidos, repeticiones de trinucleótidos,

repeticiones de tetranucleótidos, repeticiones de secuencias simples, deleciones y elementos de inserción tales como Alu. La primera forma alélica identificada se designa arbitrariamente como la forma de referencia y otras formas alélicas se designan como alelos alternativos o de variante. La forma alélica que ocurre más frecuentemente en una población seleccionada se denomina algunas veces la forma natural. Los organismos diploides pueden ser homocigóticos o heterocigóticos para las formas alélicas. Un polimorfismo dialélico tiene dos formas. Un polimorfismo trialélico tiene tres formas. Un polimorfismo entre dos ácidos nucleicos puede ocurrir naturalmente, o se provoca por exposición a o contacto con sustancias químicas, enzimas, u otros agentes, o exposición a agentes que provocan un daño a los ácidos nucleicos, por ejemplo, radiación ultravioleta, mutágenos o carcinógenos. Los términos "locus polimórfico" y "sitio polimórfico" se usan indistintamente en el presente documento.

Los términos "ácido nucleico diana polimórfico", "secuencia polimórfica", "secuencia de ácidos nucleicos diana polimórficos" y "ácido nucleico polimórfico" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a una secuencia de ácidos nucleicos, por ejemplo, una secuencia de ADN, que comprende uno o más sitios polimórficos, por ejemplo, un SNP o un SNP en tándem. Las secuencias polimórficas según la presente tecnología se pueden usar para diferenciar específicamente entre alelos maternos y no maternos en la muestra materna que comprende una mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos.

Un "polimorfismo de un solo nucleótido" (SNP) ocurre en un sitio polimórfico ocupado por un único nucleótido, que es el sitio de variación entre secuencias alélicas. El sitio va normalmente precedido y seguido por secuencias altamente conservadas del alelo (por ejemplo, secuencias que varían en menos de 1/100 o 1/1000 miembros de las poblaciones). Un SNP normalmente surge debido a la sustitución de un nucleótido por otro en el sitio polimórfico. Una transición es la sustitución de una purina por otra purina o una pirimidina por otra pirimidina. Una transición es la sustitución de una purina por una pirimidina o viceversa. Los SNP también pueden surgir de una deleción de un nucleótido o una inserción de un nucleótido con respecto a un alelo de referencia. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son posiciones en las que dos bases alternativas ocurren a frecuencia apreciable (>1 %) en la población humana, y son el tipo más común de variación genética humana.

Como se usa en el presente documento, el término "repetición en tándem corta" o "STR" como se usa en el presente documento se refiere a una clase de polimorfismos que ocurre cuando se repite un patrón de dos o más nucleótidos y las secuencias repetidas están directamente adyacentes la una a la otra. El patrón puede variar en longitud desde 2 hasta 10 pares de bases (pb) (por ejemplo, (CATG)_n en una región genómica) y normalmente está en la región de intrón no codificante. Examinando varios loci de STR y contando cuántas repeticiones de una secuencia de STR específica existen en un locus dado, es posible crear un perfil genético único de un individuo.

Como se usa en el presente documento, el término "miniSTR" en el presente documento se refiere a la repetición en tándem de cuatro o más pares de bases que engloba menos de aproximadamente 300 pares de bases, menos de aproximadamente 250 pares de bases, menos de aproximadamente 200 pares de bases, menos de aproximadamente 150 pares de bases, menos de aproximadamente 100 pares de bases, menos de aproximadamente 50 pares de bases, o menos de aproximadamente 25 pares de bases. "miniSTR" son STR que son amplificables de moldes de ADNsc.

El término "SNP en tándem" en el presente documento se refiere a dos o más SNP que están presentes dentro de una secuencia de ácidos nucleicos diana polimórficos.

Los términos "pluralidad de ácidos nucleicos diana polimórficos", "ácidos nucleicos polimórficos" y "secuencias polimórficas" se usan indistintamente en el presente documento y se refieren a varias secuencias de ácidos nucleicos que comprenden cada una al menos un sitio polimórfico, por ejemplo, un SNP, de forma que al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30 o 40 o más sitios polimórficos diferentes se amplifiquen de los ácidos nucleicos diana polimórficos para identificar y/o cuantificar alelos fetales presentes en muestras maternas que comprenden ácidos nucleicos fetales y maternos.

Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente sin células" engloba preparaciones de la muestra deseada de la que se retiran los componentes que están normalmente asociados con ella. Por ejemplo, una muestra de plasma se vuelve esencialmente sin células retirando los glóbulos sanguíneos, por ejemplo, glóbulos rojos, que normalmente están asociados con ella. En algunas realizaciones, las muestras sustancialmente libres se procesan para retirar células que contribuirían de otro modo al material genético deseado que se va a probar para una anomalía

Como se usa en el presente documento, el término "cromosoma" se refiere al portador del gen que lleva la herencia de una célula viva que deriva de cromatina y que comprende ADN y componentes de proteína (especialmente histonas). En el presente documento se emplea el sistema de numeración convencional internacionalmente reconocido de cromosomas del genoma humano individual. El tamaño de un cromosoma individual puede variar de un tipo a otro con un genoma multi-cromosómico dado y de un genoma a otro. En el caso del genoma humano, toda la masa de ADN de un cromosoma dado es normalmente superior a aproximadamente 100.000.000 pb. Por ejemplo, el tamaño de todo el genoma humano es aproximadamente 3×10^9 pb. El cromosoma más grande, el cromosoma Nº 1, contiene aproximadamente $2,4 \times 10^8$ pb, mientras que el cromosoma más pequeño, el cromosoma Nº 22, contiene aproximadamente $5,3 \times 10^7$ pb.

El término "oligonucleótido" se usa para referirse a un ácido nucleico que es relativamente corto, en general, más corto de 200 nucleótidos, más particularmente, más corto de 100 nucleótidos, lo más particularmente, más corto de 50 nucleótidos. Normalmente, los oligonucleótidos son moléculas de ADN monocatenario.

El término "cebador" se refiere a un oligonucleótido que es capaz de hibridarse (también llamado "apareamiento") con un ácido nucleico y servir de sitio de iniciación para la polimerización de nucleótidos (ARN o ADN) en condiciones apropiadas (es decir, en presencia de cuatro trifosfatos de nucleósido diferentes y un agente para la polimerización, tal como ADN o ARN polimerasa o transcriptasa inversa) en un tampón apropiado y a una temperatura adecuada. La longitud apropiada de un cebador depende del uso previsto el cebador, pero los cebadores normalmente tienen al menos 7 nucleótidos de longitud y, más normalmente varían de 10 a 30 nucleótidos, o incluso más normalmente de 15 a 30 nucleótidos, de longitud. Otros cebadores pueden ser algo más largos, por ejemplo, 30 a 50 nucleótidos de longitud.

El término "identificación alélica", como se usa en el presente documento, se refiere a la caracterización satisfactoria de un alelo por un método de análisis dado. Si el análisis proporciona caracterización satisfactoria de ambos alelos de un locus de gen de una muestra de ADN, se dice que se hacen dos identificaciones alélicas. Si un alelo está caracterizado mientras que el otro alelo no está caracterizado, se dice que se hace una identificación alélica. Si ninguno de los dos alelos está caracterizado satisfactoriamente, no se hacen identificaciones alélicas.

El término "alelo", como se usa en el presente documento, es una cualquiera de varias codificaciones de ADN viable que ocupan un locus dado (posición) en un cromosoma. Normalmente, los alelos son secuencias de ADN (ácido desoxirribonucleico) que codifican un gen, pero algunas veces el término se usa para referirse a una secuencia no de génica. El genotipo de un individuo para ese gen es el conjunto de alelos que posee. En un organismo diploide, uno que tiene copias de cada cromosoma, dos alelos constituyen el genotipo del individuo.

El término "mezcla de reacción", como se usa en el presente documento, se refiere a una mezcla que contiene componentes suficientes para llevar a cabo una reacción de amplificación.

El término "densidad de marcas de secuencia" en el presente documento se refiere al número de lecturas de secuencias que se cartografían en una secuencia de genoma de referencia, por ejemplo, la densidad de marcas de secuencia para el cromosoma 21 es el número de lecturas de secuencias generadas por el método de secuenciación que se cartografían en el cromosoma 21 del genoma de referencia. El término "relación de densidad de marcas de secuencia" en el presente documento se refiere a la relación entre el número de marcas de secuencia que se cartografían en un cromosoma del genoma de referencia, por ejemplo, el cromosoma 21, y la longitud del genoma 21 del genoma de referencia.

Los términos "valor umbral" y "valor umbral idóneo" en el presente documento se refieren a cualquier número que se calcula usando un conjunto de datos idóneo y sirve de límite de diagnóstico de una variación del número de copias, por ejemplo, una aneuploidía, en un organismo. Si se supera un umbral, un sujeto se puede diagnosticar con una variación del número de copias, por ejemplo, trisomía 21.

El término "lectura" se refiere a una secuencia de ADN de longitud suficiente (por ejemplo, al menos aproximadamente 30 pb) que se puede usar para identificar una secuencia o región mayor, por ejemplo, que se puede alinear y asignar específicamente a un cromosoma o región genómica o gen.

El término "marca de secuencia" se usa en el presente documento indistintamente con el término "marca de secuencia cartografiada" para referirse a una lectura de secuencia que se ha asignado específicamente, es decir, cartografiado, en una secuencia mayor, por ejemplo, un genoma de referencia, por alineamiento. Las marcas de secuencia cartografiadas se cartografían de forma única en un genoma de referencia, es decir, se asignan a una localización única al genoma de referencia. Las marcas que se pueden cartografiar en más de una localización en un genoma de referencia, es decir, marcas que no se cartografían de forma única, no se incluyen en el análisis.

Los términos "alineado", "alineamiento" o "alinear" se refieren a una o más secuencias que se identifican como una correspondencia en términos del orden de sus moléculas de ácidos nucleicos con respecto a una secuencia conocida de un genoma de referencia. Dicho alineamiento se puede hacer manualmente o por un algoritmo informático, ejemplos de los cuales incluyen el programa informático Efficient Local Alignment of Nucleotide Data (ELAND) distribuido como parte de la canalización de Genomics Analysis de Illumina. El emparejamiento de una lectura de secuencia en el alineamiento puede ser un emparejamiento de secuencias del 100 % o inferior al 100 % (emparejamiento no perfecto).

El término "genoma de referencia" se refiere a cualquier secuencia de genoma conocida particular, tanto parcial como completa, de cualquier organismo o virus que se puede usar para referenciar secuencias identificadas de un sujeto. Por ejemplo, un genoma de referencia usado para sujetos humanos, así como muchos otros organismos, se encuentra en el Centro nacional para información biotecnológica en www.ncbi.nlm.nih.gov. Un "genoma" se refiere a la información genética completa de un organismo o virus, expresado en secuencias de ácidos nucleicos.

El término "genoma de secuencias diana artificial" en el presente documento se refiere a una agrupación de secuencias conocidas que engloban alelos de sitios polimórficos conocidos. Por ejemplo, un "genoma de referencia de SNP" es

un genoma de secuencias diana artificial que comprende una agrupación de secuencias que engloba alelos de SNP conocidos.

El término "secuencia de relevancia clínica" en el presente documento se refiere a una secuencia de ácidos nucleicos que se conoce o se sospecha que se asocia a o está implicada en una afección genética o patología. La determinación de la ausencia o presencia de una secuencia de relevancia clínica puede ser útil en la determinación de un diagnóstico o la confirmación de un diagnóstico de una afección médica, o que proporciona un pronóstico para el desarrollo de una enfermedad.

El término "muestra mixta" en el presente documento se refiere a una muestra que contiene una mezcla de ácidos nucleicos, que deriva de diferentes genomas.

El término "muestra materna original" en el presente documento se refiere a una muestra biológica obtenida de un sujeto embarazado, por ejemplo, una mujer, que sirve de fuente de la que se retira una porción para amplificar los ácidos nucleicos diana polimórficos. La "muestra original" puede ser cualquier muestra obtenida de un sujeto embarazado, y las fracciones procesadas de la misma, por ejemplo, una muestra de ADNsc purificada extraída de una muestra materna de plasma. El término "muestra original materna" en el presente documento se refiere a una muestra biológica obtenida de un sujeto embarazado, por ejemplo, una mujer, que sirve de fuente de la que se retira una porción para amplificar los ácidos nucleicos diana polimórficos. La "muestra original" puede ser cualquier muestra obtenida de un sujeto embarazado, y las fracciones procesadas de la misma, por ejemplo, una muestra de ADNsc purificada extraída de una muestra materna de plasma.

El término "líquido biológico" en el presente documento se refiere a un líquido tomado de una fuente biológica e incluye, por ejemplo, sangre, suero, plasma, esputo, líquido de lavado, líquido cefalorraquídeo, orina, semen, sudor, lágrimas, saliva y similares. Como se usa en el presente documento, los términos "sangre", "plasma" y "suero" engloban explícitamente fracciones o porciones procesadas de los mismos. Similarmente, donde una muestra se toma de una biopsia, hisopo, frotis, etc., la "muestra" engloba explícitamente una fracción o porción procesada derivada de la biopsia, hisopo, frotis, etc.

Los términos "ácidos nucleicos maternos" y "ácidos nucleicos fetales" en el presente documento se refieren a los ácidos nucleicos de un sujeto femenino embarazado y los ácidos nucleicos del feto que son portados por la hembra embarazada, respectivamente.

El término "correspondientes a" en el presente documento se refiere a una secuencia de ácidos nucleicos, por ejemplo un gen o un cromosoma, que está presente en el genoma de diferentes sujetos, y que no tiene necesariamente la misma secuencia en todos los genomas, pero sirve para proporcionar la identidad en vez de la información genética de una secuencia de interés, por ejemplo, un gen o cromosoma.

El término "grupo de cromosomas" en el presente documento se refiere a dos o más cromosomas.

El término "sujeto" en el presente documento se refiere a un sujeto humano, así como a sujeto no humano tal como un mamífero.

DESCRIPCIÓN

Los métodos descritos en el presente documento permiten la determinación de la fracción del componente secundario del ácido nucleico fetal en una muestra que comprende una mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos. En particular, el método permite la determinación de la fracción de ADNsc con la que contribuye un feto a la mezcla de ADNsc fetal y materno en una muestra materna, por ejemplo, una muestra de plasma. La diferencia entre la fracción materna y la fetal se determina por la contribución relativa de un alelo polimórfico derivado del genoma fetal a la contribución del alelo polimórfico correspondiente derivado del genoma materno. Se pueden usar secuencias polimórficas junto con pruebas de diagnóstico de relevancia clínica como control positivo para la presencia de ADNsc para poner de relieve resultados negativos falsos o positivos falsos que proceden de bajos niveles de ADNsc por debajo del límite de identificación. Los métodos descritos son independientes del sexo del feto, y son útiles en un intervalo de edades gestacionales.

La **Figura 1** proporciona un diagrama de flujo de una realización **100** para determinar la fracción de ácidos nucleicos fetales en una muestra biológica materna por secuenciación masiva en paralelo de ácidos nucleicos diana polimórficos amplificados por PCR. En la etapa **110** se obtiene de un sujeto una muestra materna que comprende una mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos. La muestra es una muestra materna que se obtiene de una hembra embarazada, por ejemplo, una mujer embarazada. Otras muestras maternas pueden ser de mamíferos, por ejemplo, vaca, caballo, perro o gato. Si el sujeto es un humano, la muestra se puede tomar en el primer o segundo trimestre de embarazo. Se puede usar cualquier muestra biológica materna como fuente de ácidos nucleicos fetales y maternos que están contenidos en células o que están "sin células". En algunas realizaciones, es ventajoso obtener una muestra materna que comprende ácidos nucleicos sin células, por ejemplo, ADNsc. En la invención reivindicada, la muestra biológica materna es una muestra de plasma. Como se usa en el presente documento, los términos "sangre", "plasma" y "suero" engloban explícitamente fracciones o porciones procesadas de los mismos.

En la etapa **120**, la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos se procesa aún más a partir de la fracción de muestra, por ejemplo, plasma, para obtener una muestra que comprende una mezcla purificada de ácidos nucleicos fetales y maternos, por ejemplo, ADNsc. Los ácidos nucleicos sin células, que incluyen ADN sin células, se pueden obtener por diversos métodos conocidos en la técnica a partir de muestras biológicas que incluyen, pero no se limitan a, plasma, suero y orina (Fan et al., Proc Natl Acad Sci 105:16266-16271 [2008]; Koide et al., Prenatal Diagnosis 25:604-607 [2005]; Chen et al., Nature Med. 2: 1033-1035 [1996]; Lo et al., Lancet 350: 485-487 [1997]. Para separar ADNsc de células, se puede usar fraccionamiento, centrifugación (por ejemplo, centrifugación en gradiente de densidad), precipitación específica de ADN o clasificación de células de alto rendimiento y/o métodos de separación. Los ejemplos de métodos para procesar las muestras líquidas se han desvelado previamente, por ejemplo, las solicitudes de patente de EE. UU. N° 20050282293, 20050224351 y 20050065735. Están disponibles kits comercialmente disponibles para la separación manual y automática de ADNsc (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN, Qiagen, Valencia, CA, Macherey-Nagel, Duren, DE). En algunos casos, puede ser ventajoso fragmentar las moléculas de ácidos nucleicos en la muestra de ácidos nucleicos. La fragmentación puede ser aleatoria, o puede ser específica, como se logra, por ejemplo, usando digestión por endonucleasa de restricción. Los métodos de fragmentación aleatoria se conocen bien en la técnica, e incluyen, por ejemplo, digestión con DNAsa limitada, tratamiento alcalino y cizallamiento físico. En la invención reivindicada, se obtienen ácidos nucleicos de muestra como ADNsc, que no se somete a fragmentación. En otros casos, los ácidos nucleicos de la muestra se pueden obtener como ADN genómico, que se somete a fragmentación en fragmentos de aproximadamente 500 o más pares de bases, y a los que se pueden aplicar fácilmente métodos de NGS.

En la etapa **130**, se usa una porción de la mezcla purificada de ADNsc fetal y materno para amplificar una pluralidad de ácidos nucleicos diana polimórficos cada uno de los cuales comprende un sitio polimórfico. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos diana comprenden cada uno un SNP. En otras realizaciones, cada uno de los ácidos nucleicos diana comprende un par de SNP en tándem. En aún otros casos, cada uno de los ácidos nucleicos diana comprende un STR. Los sitios polimórficos que están contenidos en los ácidos nucleicos diana incluyen, sin limitación, polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), SNP en tándem, deleciones o inserciones de múltiples bases a pequeña escala, los denominados IN-DELS (también denominados polimorfismos de deleción-inserción o DIP), polimorfismos de nucleótidos múltiples (MNP), repeticiones en tándem cortas (STR), polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP), o un polimorfismo que comprende cualquier otro cambio de secuencia en un cromosoma. En algunas realizaciones, los sitios polimórficos se localizan en cromosomas autosómicos, lo que permite así la determinación de la fracción fetal independientemente del sexo del feto. También se pueden usar los polimorfismos asociados a cromosomas distintos del cromosoma 13, 18, 21 e Y en los métodos descritos en el presente documento.

Los polimorfismos pueden ser indicativos, informativos, o ambos. Los polimorfismos indicativos indican la presencia de ADN sin células fetal en una muestra materna. Por ejemplo, cuanto más haya de una secuencia genética particular, por ejemplo, un SNP, más traducirá un método su presencia en una intensidad de color particular, densidad de color, o alguna otra propiedad que sea detectable y medible e indicativa de la presencia, ausencia y cantidad de un fragmento de ADN particular y/o polimorfismo particular, por ejemplo, SNP del embrión. Los polimorfismos indicativos dan información sobre el feto - por ejemplo, la presencia o ausencia de una enfermedad, anomalía genética o cualquier otra información biológica, tal como la etapa de gestación o sexo. Con respecto a la presente invención, los métodos no se realizan usando todos los posibles SNP en un genoma, sino que usan los que se dice que son "informativos". Los "SNP informativos" en este caso son los que identifican diferencias en la secuencia de la madre y del feto. Se puede usar cualquier sitio polimórfico que pueda estar englobado por las lecturas generadas por los métodos de secuenciación descritos en el presente documento para determinar la fracción fetal.

En una realización, se usa una porción de la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos en la muestra (es decir, el ADNsc) como molde para amplificar ácidos nucleicos diana que comprenden al menos un SNP. En algunas realizaciones, cada ácido nucleico diana comprende un único SNP, es decir, uno. Las secuencias de ácidos nucleicos diana que comprenden SNP están disponibles de bases de datos públicamente accesibles que incluyen, pero no se limitan a, Human SNP Database en la dirección de la malla multimedia mundial wi.mit.edu, NCBI dbSNP Home Page en la dirección de la malla multimedia mundial ncbi.nlm.nih.gov, la dirección de la malla multimedia mundial lifesciences.perkinelmer.com, Applied Biosystems de Life Technologies™ (Carlsbad, CA) en la dirección de la malla multimedia mundial appliedbiosystems.com, la base de datos Celera Human SNP en la dirección de la malla multimedia mundial celera.com, la base de datos de SNP del Genome Analysis Group (GAN) en la dirección de la malla multimedia mundial gan.iarc.fr. En una realización, los SNP elegidos para el enriquecimiento de los ADNsc fetales y maternos se seleccionan del grupo de 92 SNP de identificación individual (IISNP) descrito por Pakstis et al. (Pakstis et al., Hum Genet 127:315-324 [2010]), que se ha mostrado que tienen una variación muy pequeña en la frecuencia a través de las poblaciones ($F_{st} < 0,06$), y que es altamente informativa en todo el mundo, teniendo una heterocigosidad promedio $\geq 0,4$. Los SNP que están englobados por el método de la invención incluyen SNP unidos y no unidos. Otros SNP útiles aplicables o útiles para los métodos descritos en el presente documento se desvelan en las solicitudes de patente de EE. UU. N° 20080070792, 20090280492, 20080113358, 20080026390, 20080050739, 20080220422 y 20080138809. Cada ácido nucleico diana comprende al menos un sitio polimórfico, por ejemplo, un único SNP, que se diferencia del presente en otro ácido nucleico diana por generar un panel de sitios polimórficos, por ejemplo SNP, que contiene un número suficiente de sitios polimórficos de los que al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12,

al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más son informativos. Por ejemplo, se puede configurar un panel de SNP para que comprenda al menos un SNP informativo. En una realización, los SNP que se dirigen para la amplificación se seleccionan de rs560681, rs1109037, rs9866013, rs13182883, rs13218440, rs7041158, rs740598, rs10773760, rs4530059, rs7205345, rs8078417, rs576261, rs2567608, rs430046, rs9951171, rs338882, rs10776839, rs9905977, rs1277284, rs258684, rs1347696, rs508485, rs9788670, rs8137254, rs3143, rs2182957, rs3739005 y rs530022. En una realización, el panel de SNP comprende al menos 3, al menos 5, al menos 10, al menos 13, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30 o más SNP. En una realización, el panel de SNP comprende rs560681, rs1109037, rs9866013, rs13182883, rs13218440, rs7041158, rs740598, rs10773760, rs4530059, rs7205345, rs8078417, rs576261 y rs2567608. Los ácidos nucleicos polimórficos que comprenden los SNP se pueden amplificar usando pares de cebadores a modo de ejemplo proporcionados en el Ejemplo 3, y desvelados como SEQ ID NO: 57-112.

En otras realizaciones, cada ácido nucleico diana comprende dos o más SNP, es decir, cada ácido nucleico diana comprende SNP en tándem. Preferentemente, cada ácido nucleico diana comprende dos SNP en tándem. Los SNP en tándem se analizan como una única unidad como haplotipos cortos, y se proporcionan en el presente documento como conjuntos de dos SNP. Para identificar secuencias de SNP en tándem adecuadas, se puede buscar en la base de datos International HapMap Consortium (The International HapMap Project, Nature 426:789-796 [2003]). La base de datos está disponible en la malla multimedia mundial en hapmap.org. En una realización, los SNP en tándem que se dirigen para amplificación se seleccionan de los siguientes conjuntos de pares de SNP en tándem rs277033-rs2110153; rs2822654-rs1882882; rs368657-rs376635; rs2822731-rs2822732; rs1475881-rs7275487; rs1735976-rs2827016; rs447340-rs2824097; rs418989-rs13047336; rs987980-rs987981; rs4143392-rs4143391; rs1691324-rs13050434; rs11909758-rs9980111; rs2826842-rs232414; rs1980969-rs1980970; rs9978999-rs9979175; rs1034346-rs12481852; rs7509629-rs2828358; rs4817013-rs7277036; rs9981121-rs2829696; rs455921-rs2898102; rs2898102-rs458848; rs961301-rs2830208; rs2174536-rs458076; rs11088023-rs11088024; rs1011734-rs1011733; rs2831244-rs9789838; rs8132769-rs2831440; rs8134080-rs2831524; rs4817219-rs4817220; rs2250911-rs2250997; rs2831899-rs2831900; rs2831902-rs2831903; rs11088086-rs2251447; rs2832040-rs11088088; rs2832141-rs2246777; rs2832959-rs9980934; rs2833734-rs2833735; rs933121-rs933122; rs2834140-rs12626953; rs2834485-rs3453; rs9974986-rs2834703; rs2776266-rs2835001; rs1984014-rs1984015; rs7281674-rs2835316; rs13047304-rs13047322; rs2835545-rs4816551; rs2835735-rs2835736; rs13047608-rs2835826; rs2836550-rs2212596; rs2836660-rs2836661; rs465612-rs8131220; rs9980072-rs8130031; rs418359-rs2836926; rs7278447-rs7278858; rs385787-rs367001; rs367001-rs386095; rs2837296-rs2837297; y rs2837381-rs4816672. Los ácidos nucleicos polimórficos que comprenden los SNP en tándem se pueden amplificar usando pares de cebadores que amplifican secuencias polimórficas que comprenden los SNP en tándem. Los ejemplos de pares de cebadores que se pueden usar para amplificar los SNP en tándem en el presente documento se desvelan en SEQ ID NO: 197-310 como se proporciona en el Ejemplo 8.

En un caso de la divulgación, una porción de la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos en la muestra, por ejemplo, ADNsc, se usa como molde para amplificar ácidos nucleicos diana que comprenden al menos un STR. En algunos casos de la divulgación, cada ácido nucleico diana comprende un único STR, es decir, uno. Los loci de STR se encuentran en casi cada cromosoma en el genoma y se pueden amplificar usando una variedad de cebadores de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se han preferido las repeticiones de tetranucleótidos entre los científicos forenses debido a su fidelidad en la amplificación por PCR, aunque también están en uso algunas repeticiones de tri- y pentanucleótidos. Un amplio listado de referencias, hechos e información de secuencias sobre STR, cebadores de PCR publicados, sistemas de multiplex comunes y datos de poblaciones relacionados se compilan en STRBase, a la que se puede acceder por la malla multimedia mundial en ibm4.carb.nist.gov:8800/DNA/home.htm. La información de secuencias de GenBank® (<http://www2.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/genbank>) para loci de STR comúnmente usados también está accesible a través de STRBase. Los kits comerciales disponibles para el análisis de loci de STR proporcionan, en general, todos los componentes de reacción necesarios y controles requeridos para la amplificación. Los sistemas multiplex de STR permiten la amplificación simultánea de múltiples loci que no se solapan en una única reacción, que aumentan sustancialmente el rendimiento. Con detección fluorescente multicolor, se pueden multiplexar loci que incluso se solapan. La naturaleza polimórfica de las secuencias de ADN repetidas en tándem que están extendidas en todo el genoma humano ha hecho que sean marcadores genéticos importantes para estudios de cartografía de genes, análisis de enlaces y pruebas de identidad humana. Debido al alto polimorfismo de STR, la mayoría de los individuos serán heterocigóticos, es decir, la mayoría de las personas poseerán dos alelos (versiones) de cada uno – uno heredado de cada padre – con un número de repeticiones diferente. Los productos de PCR que comprenden los STR se pueden separar y detectar usando métodos manuales, semiautomáticos o automáticos. Los sistemas semiautomáticos se basan en gel y combinan electroforesis, detección y análisis en una unidad. En un sistema semiautomático, el ensamblaje en gel y la carga de muestras son todavía procesos manuales; sin embargo, una vez se cargan las muestras en el gel, la electroforesis, la detección y el análisis se desarrollan automáticamente. La recogida de datos ocurre en "tiempo real" a medida que los fragmentos fluorescentemente marcados migran por delante del detector en un punto fijo y se pueden visualizar a medida que se recogen. Como el nombre implica, se lleva a cabo electroforesis capilar en un tubo microcapilar en vez de entre placas de vidrio. Una vez se cargan las muestras, el polímero de gel y el tampón en el instrumento, el capilar se llena con polímero de gel y la muestra se carga automáticamente. Por lo tanto, la secuencia de STR fetal no heredada de la madre se diferenciará en el número de repeticiones de la secuencia materna. La amplificación de estas secuencias de STR puede dar como resultado uno o dos productos de amplificación importantes correspondientes a los alelos maternos (y el alelo fetal

heredado de la madre) y un producto secundario correspondiente al alelo fetal no heredado de la madre. Esta técnica fue informada por primera vez en 2000 (Pertl et al., *Human Genetics* 106:45-49) [2000] y se ha desarrollado posteriormente usando identificación simultánea de múltiples regiones de STR diferentes usando PCR en tiempo real (Liu et al., *Acta Obstet Gyn Scand* 86:535-541 [2007]). Se han usado amplicones de PCR de diversos tamaños para diferenciar las respectivas distribuciones de tamaño de especies de ADN fetal y materno circulante, y han mostrado que las moléculas de ADN fetal en el plasma de mujeres embarazadas son, en general, más cortas que las moléculas de ADN materno (Chan et al., *Clin Chem* 50:8892 [2004]). El fraccionamiento por tamaño del ADN fetal circulante ha confirmado que la longitud promedio de los fragmentos de ADN fetal circulante es <300 pb, mientras que se ha estimado que el ADN materno está entre aproximadamente 0,5 y 1 Kb (Li et al., *Clin Chem*, 50: 1002-1011 [2004]). La divulgación proporciona un método de determinación de la fracción de ácido nucleico fetal en una muestra materna que comprende determinar la cantidad de copias de al menos un alelo fetal y uno materno en un sitio miniSTR polimórfico, que se puede amplificar para generar amplicones que son de longitudes de aproximadamente el tamaño de los fragmentos de ADN fetal circulante, por ejemplo, inferiores a aproximadamente 250 pares de bases. En un caso de la divulgación, la fracción fetal se puede determinar por un método que comprende la secuenciación de al menos una porción de ácidos nucleicos diana polimórficos amplificados cada uno de los cuales comprende una miniSTR. Los alelos fetales y maternos en un sitio de STR informativo se diferencian por sus diferentes longitudes, es decir, número de repeticiones, y la fracción fetal se puede calcular como una relación de porcentaje de la cantidad de alelos fetales-maternos en ese sitio. El método puede usar uno o una combinación de cualquier número de miniSTR informativos para determinar la fracción de ácido nucleico fetal. Por ejemplo, se puede usar uno cualquiera o una combinación de cualquier número de miniSTR, por ejemplo las miniSTR desveladas en la Tabla 7 y las Figuras 4 y 5. En un caso de la divulgación, la fracción de ácido nucleico fetal en una muestra materna se realiza usando un método que incluye determinar el número de copias del ácido nucleico materno y fetal presente en la muestra materna amplificando al menos un miniSTR autosómico elegido de CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, Penta D, Penta E, D2S1338, D1S1677, D2S441, D4S2364, D10S1248, D14S1434, D22S1045, D22S1045, D20S1082, D20S482, D18S853, D17S1301, D17S974, D14S1434, D12ATA63, D11S4463, D10S1435, D10S1248, D9S2157, D9S1122, D8S1115, D6S1017, D6S474, D5S2500, D5S2500, D4S2408, D4S2364, D3S4529, D3S3053, D2S1776, D2S441, D1S1677, D1S1627 y D1GATA113. En otro caso de la divulgación, la al menos una miniSTR autosómica es el grupo de miniSTR CSF1PO, FGA, D13S317, D16S539, D18S51, D2S1338, D21S11, D2S1338 y D7S820. En un caso de la divulgación, el método comprende determinar el número de copias de al menos un alelo fetal y al menos uno materno al menos en una miniSTR polimórfica que se amplifica para generar amplicones que son inferiores a aproximadamente 300 pb, inferiores a aproximadamente 250 pb, inferiores a aproximadamente 200 pb, inferiores a aproximadamente 150 pb, inferiores a aproximadamente 100 pb o inferiores a aproximadamente 50 pb. En otro caso de la divulgación, los amplicones que se generan amplificando las miniSTRs son inferiores a aproximadamente 300 pb. En otro caso de la divulgación, los amplicones que se generan amplificando las miniSTR son inferiores a aproximadamente 250 pb. En otro caso de la divulgación, los amplicones que se generan amplificando las miniSTR son inferiores a aproximadamente 200 pb. La amplificación del alelo informativo incluye el uso de cebadores de miniSTR, que permite la amplificación de amplicones de tamaño reducido para detectar alelos de STR que son inferiores a aproximadamente 500 pb, inferiores a aproximadamente 450 pb, inferiores a aproximadamente 400 pb, inferiores a aproximadamente 350 pb, inferiores a aproximadamente 300 pares de bases (pb), inferiores a aproximadamente 250 pb, inferiores a aproximadamente 200 pb, inferiores a aproximadamente 150 pb, inferiores a aproximadamente 100 pb o inferiores a aproximadamente 50 pb. Los amplicones de tamaño reducido generados usando los cebadores de miniSTR se conocen como miniSTR, que se identifican según el nombre de marcador correspondiente en el locus con el que se han cartografiado. En un caso de la divulgación, los cebadores de miniSTR incluyen cebadores de miniSTR que han permitido la máxima reducción de tamaño en el tamaño del amplicón para los 13 loci de STR de CODIS, además de D2S1338, Penta D y pentaE encontrados en kits de STR comercialmente disponibles (Butler et al., *J Forensic Sci* 48:1054-1064 [2003]), loci de miniSTR que no están unidos a los marcadores CODIS como se describe por Coble y Butler (Coble y Butler, *J Forensic Sci* 50:43-53 [2005]) y otros miniSTR que se han caracterizado en NIST. La información referente a la miniSTR caracterizada en NIST está accesible por la malla multimedia mundial en cstl.nist.gov/biotech/strbase/newSTRs.htm. Se puede usar un par cualquiera o una combinación de dos o más pares de cebadores de miniSTR para amplificar al menos un miniSTR.

En un caso de la divulgación, los conjuntos de cebadores a modo de ejemplo que se pueden usar para amplificar STR en muestras de ADNsc materno incluyen los conjuntos de cebadores proporcionados en el Ejemplo 9 y desvelados como SEQ ID NO: 113-196.

La identificación del sexo (tipado del sexo) se realiza comúnmente junto con el tipado de STR usando productos de PCR generados a partir del gen amelogenina que se encuentra en tanto el cromosoma X como Y. La amelogenina no es un locus de STR, pero produce productos de PCR específicos del cromosoma X e Y. Un conjunto de cebadores de PCR comúnmente usado publicado por primera vez por Sullivan et al. (1993) (Sullivan et al., *BioTechniques* 15:637-641 [1993]) se dirige a una delección de 6 pb que ocurre en el cromosoma X, que permite que amplicones generados a partir del cromosoma X e Y se distingan entre sí cuando se realiza la separación electroforética para separar alelos de STR. La mayoría de los kits comerciales de STR utilizan los cebadores de Sullivan et al. (1993) o modificaciones secundarias. Puesto que las hembras son X,X, solo se observa un único pico cuando se prueban muestras de ADN femenino, mientras que los varones, que poseen tanto cromosomas X como Y, presentan dos picos con una prueba de amelogenina habitual. En un caso de la divulgación, el método para determinar la fracción de ácido nucleico fetal

en una muestra materna comprende coamplificar amelogenina con al menos una miniSTR. En otro caso de la divulgación, el método no comprende coamplificar amelogenina con loci de miniSTR.

La amplificación de los ácidos nucleicos diana en la mezcla de ácido nucleico fetal y materno, por ejemplo ADNsc, se lleva a cabo por cualquier método que use PCR o variaciones del método que incluyen, pero no se limitan a, PCR digital, PCR en tiempo real (RT-PCR), sistema de PCR TaqMan (Applied Biosystems), métodos SNplex o Genplex, PCR asimétrica, amplificación dependiente de helicasa, PCR de inicio en caliente, qPCR, PCR en fase sólida y PCR touchdown. Alternativamente, la replicación de secuencias de ácidos nucleicos diana se puede obtener por métodos independientes de enzima, por ejemplo, síntesis química en fase sólida usando los fosforamiditos. La amplificación de las secuencias diana se lleva a cabo usando pares de cebadores que son capaces de amplificar una secuencia de ácidos nucleicos diana que comprende el sitio polimórfico, por ejemplo, SNP, en una reacción de PCR múltiplex. Las reacciones de PCR múltiplex incluyen combinar al menos 2, al menos tres, al menos 3, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más conjuntos de cebadores en la misma reacción para cuantificar los ácidos nucleicos diana amplificados que comprenden al menos dos, al menos tres, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más sitios polimórficos en la misma reacción de secuenciación. Se puede configurar cualquier panel de conjuntos de cebadores para amplificar al menos una secuencia polimórfica informativa.

En la etapa **140** del método **100** (**Figura 1**), se usa una porción o todas las secuencias polimórficas amplificadas para preparar una biblioteca de secuenciación para la secuenciación en un modo paralelo como se ha descrito. En una realización, la biblioteca se prepara para la secuenciación por síntesis usando química de secuenciación basada en terminador reversible de Illumina.

En la etapa **140**, la información de secuencias que se necesita para determinar la fracción fetal se obtiene usando cualquiera de los métodos de secuenciación de ADN conocidos. En una realización, el método descrito en el presente documento emplea tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS) en la que moldes de ADN clonalmente amplificados o moléculas de ADN individuales se secuencian en un modo masivo en paralelo dentro de una celda de flujo (por ejemplo, como se describe en Volkerding et al. Clin Chem 55:641-658 [2009]; Metzker M Nature Rev 11:31-46 [2010]). Además de la información de secuencias de alto rendimiento, la NGS proporciona información cuantitativa digital, en la que cada lectura de secuencia es una "marca de secuencia" contable que representa un molde de ADN clonal individual o una única molécula de ADN. Esta cuantificación permite que la NGS amplíe el concepto de PCR digital de contar moléculas de ADN sin células (Fan et al., Proc Natl Acad Sci U S A 105:16266-16271 [2008]; Chiu et al., Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105:20458-20463 [2008]). Las tecnologías de secuenciación de NGS incluyen pirosecuenciación, secuenciación por síntesis con terminadores reversibles con colorante, secuenciación por ligación de sondas de oligonucleótidos y secuenciación en tiempo real.

Están disponibles comercialmente algunas de las tecnologías de secuenciación, tales como la plataforma de secuenciación por hibridación de Affymetrix Inc. (Sunnyvale, CA) y las plataformas de secuenciación por síntesis de 454 Life Sciences (Bradford, CT), Illumina/Solexa (Hayward, CA) y Helicos Biosciences (Cambridge, MA), y la plataforma de secuenciación por ligación de Applied Biosystems (Foster City, CA), como se describen a continuación. Además de la secuenciación de una sola molécula realizada usando secuenciación por síntesis de Helicos Biosciences, otras tecnologías de secuenciación de una sola molécula están englobadas por el método de la invención e incluyen la tecnología SMRT™ de Pacific Biosciences, la tecnología Ion Torrent™ y la secuenciación Nanopore que se desarrolla, por ejemplo, por Oxford Nanopore Technologies.

Aunque el método automático de Sanger se considera una tecnología de 'primera generación', por el método de la invención también se puede emplear la secuenciación de Sanger que incluye la secuenciación automática de Sanger. Los métodos de secuenciación adicionales que comprenden el uso del desarrollo de tecnologías de obtención de imágenes de ácidos nucleicos, por ejemplo, microscopía de fuerza atómica (AFM) o microscopía de transmisión electrónica (TEM), también están englobados por el método de la invención. A continuación, se describen las tecnologías de secuenciación a modo de ejemplo.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN que se usa en el método de la invención es la True Single Molecule Sequencing (tSMS) de Helicos (por ejemplo, como se describe en Harris T.D. et al., Science 320:106-109 [2008]). En la técnica tSMS, una muestra de ADN se escinde en cadenas de aproximadamente 100 a 200 nucleótidos, y se añade una secuencia de poli A al extremo 3' de cada cadena de ADN. Cada cadena se marca mediante la adición de un nucleótido de adenosina fluorescentemente marcado. Entonces se hibridan las cadenas de ADN con una celda de flujo, que contiene millones de sitios de captura de oligo-T que se inmovilizan en la superficie de la celda de flujo. Los moldes pueden ser a una densidad de aproximadamente 100 millones de moldes/cm². Entonces se carga la celda de flujo en un instrumento, por ejemplo, secuenciador HeliScope™, y un láser ilumina la superficie de la celda de flujo, revelando la posición de cada molde. Una cámara de CCD puede cartografiar la posición de los moldes en la superficie de la celda de flujo. Entonces se escinde la marca fluorescente del molde y se lava. La reacción de secuenciación empieza introduciendo una ADN polimerasa y un nucleótido fluorescentemente marcado. El ácido nucleico de oligo-T sirve de cebador. La polimerasa incorpora los nucleótidos marcados al cebador en un modo dirigido al molde. Se retiran la polimerasa y los nucleótidos no incorporados. Los moldes que tienen incorporación dirigida del nucleótido fluorescentemente marcado se diferencian por obtención de imágenes de la superficie de la celda de flujo. Después de la obtención de imágenes, una etapa de escisión retira la marca fluorescente, y el proceso se repite con otros

nucleótidos fluorescentemente marcados hasta que se logra la longitud de lectura deseada. Se recoge la información de secuencia con cada etapa de adición de nucleótidos.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN que se usa en el método de la invención es la secuenciación 454 (Roche) (por ejemplo, como se describe en Margulies, M. et al., Nature 437:376-380 [2005]). La secuenciación 454 implica dos etapas. En la primera etapa, se corta el ADN en fragmentos de aproximadamente 300-800 pares de bases, y los fragmentos se hacen romos en los extremos. Entonces se ligan adaptadores de oligonucleótidos a los extremos de los fragmentos. Los adaptadores sirven de cebadores para la amplificación y la secuenciación de los fragmentos. Los fragmentos se pueden fijar a perlas de captura de ADN, por ejemplo, perlas recubiertas de estreptavidina, usando, por ejemplo, Adaptor B, que contiene una marca de 5'-biotina. Los fragmentos unidos a las perlas se amplifican por PCR dentro de gotitas de una emulsión de aceite-agua. El resultado es múltiples copias de fragmentos de ADN clonalmente amplificado en cada perla. En la segunda etapa, las perlas se capturan en pocillos (del tamaño de picolitros). La pirosecuenciación se realiza en cada fragmento de ADN en paralelo. La adición de uno o más nucleótidos genera una señal de luz que se registra por una cámara de CCD en un instrumento de secuenciación. La intensidad de la señal es proporcional al número de nucleótidos incorporados. La pirosecuenciación hace uso de pirofosfato (PPi) que se libera tras la adición de nucleótidos. La PPi se convierte en ATP por ATP sulfurilasa en presencia de adenosina 5'-fosfosulfato. La luciferasa usa ATP para convertir la luciferina en oxiluciferina, y esta reacción genera luz que se diferencia y se analiza.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN que se usa en el método de la invención es la tecnología SOLiD (Applied Biosystems). En la secuenciación por ligación SOLiD, se corta ADN genómico en fragmentos, y se fijan adaptadores a los extremos 5' y 3' de los fragmentos para generar una biblioteca de fragmentos. Alternativamente, se pueden introducir adaptadores internos ligando adaptadores a los extremos 5' y 3' de los fragmentos, circularizando los fragmentos, que digieren el fragmento circularizado para generar un adaptador interno, y uniendo los adaptadores a los extremos 5' y 3' de los fragmentos resultantes para generar una biblioteca de extremos emparejados. A continuación, se preparan poblaciones de perlas clonales en microrreactores que contienen perlas, cebadores, molde y componentes de PCR. Tras la PCR, los moldes se desnaturalizan y las perlas se enriquecen para separar las perlas con moldes ampliados. Los moldes en las perlas seleccionadas se someten a una modificación de 3' que permite la unión a un portaobjetos de vidrio. La secuencia se puede determinar por hibridación secuencial y ligación de oligonucleótidos parcialmente aleatorios con una base central determinada (o par de bases) que se identifica por un fluoróforo específico. Después de registrar un color, el oligonucleótido ligado se escinde y se retira y entonces se repite el proceso.

En una realización, la secuenciación de tecnología de ADN que se usa en el método de la invención es la tecnología de secuenciación en tiempo real de una molécula individual (SMRT™) de Pacific Biosciences. En la secuenciación SMRT, se obtienen imágenes de la incorporación continua de nucleótidos marcados con colorante durante la síntesis de ADN. Se fijan las moléculas individuales de ADN polimerasa a la superficie inferior de identificadores de longitud de onda de modo cero (identificadores ZMW) individuales que obtienen información de secuencia mientras que los nucleótidos unidos en fosfo se incorporan en la cadena de cebador que crece. Un ZMW es una estructura de confinamiento que permite la observación de la incorporación de un único nucleótido por ADN polimerasa contra el fondo de nucleótidos fluorescentes que difunden rápidamente dentro y fuera del ZMW (en microsegundos). Se necesitan varios milisegundos para incorporar un nucleótido en una cadena en crecimiento. Durante este tiempo, la marca fluorescente se excita y produce una señal fluorescente, y la marca fluorescente se escinde. La identificación de la fluorescencia correspondiente del colorante indica qué base se incorporó. Se repite el proceso.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN que se usa en el método de la invención es la secuenciación Nanopore (por ejemplo, como se describe en Soni GV y Meller A. Clin Chem 53: 1996-2001 [2007]). Varias empresas están desarrollando industrialmente técnicas de análisis de ADN de secuenciación Nanopore, que incluyen Nanopore Technologies de Oxford (Oxford, Reino Unido). La secuenciación Nanopore es una tecnología de secuenciación de moléculas individuales por la cual una única molécula de ADN se secuencia directamente a medida que pasa a través de un nanoporo. Un nanoporo es un orificio pequeño, del orden de 1 nanómetro de diámetro. La inmersión de un nanoporo en un líquido conductor y la aplicación de un potencial (tensión) a través de él da como resultado una ligera corriente eléctrica debido a la conducción de iones a través del nanoporo. La cantidad de corriente que circula es sensible al tamaño y la forma del nanoporo. A medida que una molécula de ADN pasa a través de un nanoporo, cada nucleótido en la molécula de ADN obstruye el nanoporo a un grado diferente, cambiando la magnitud de la corriente a través del nanoporo en diferentes grados. Así, este cambio en la corriente a medida que la molécula de ADN pasa a través del nanoporo representa una lectura de la secuencia de ADN.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN que se usa en el método de la invención es la matriz de transistores de efecto campo sensibles a agentes químicos (chemFET) (por ejemplo, como se describe en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. Nº 20090026082). En un ejemplo de la técnica, se pueden colocar moléculas de ADN en cámaras de reacción, y las moléculas de molde se pueden hibridar con un cebador de secuenciación unido a una polimerasa. La incorporación de uno o más trifosfatos en una nueva hebra de ácido nucleico en el extremo 3' del cebador de secuenciación se puede distinguir por un cambio en la corriente por un chemFET. Una matriz puede tener múltiples sensores de chemFET. En otro ejemplo, los ácidos nucleicos individuales se pueden fijar a perlas, y los ácidos nucleicos se pueden amplificar en la perla, y las perlas individuales se pueden transferir a

cámaras de reacción individuales en una matriz de chemFET, teniendo cada cámara un sensor chemFET, y se pueden secuenciar los ácidos nucleicos.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN que se usa en el método de la invención es el método de Halcyon Molecular que usa microscopía electrónica de transmisión (TEM). El método, denominado Molecule Placement Rapid Nano Transfer (IMPRNT), comprende utilizar obtención de imágenes de microscopio electrónico de transmisión de resolución de átomos individuales de ADN de alto peso molecular (150 kb o superior) selectivamente marcado con marcadores de átomos pesados y disponer estas moléculas sobre películas ultrafinas en matrices paralelas ultradensas (3 nm de cadena a cadena) con separación constante entre bases. El microscopio electrónico se usa para obtener imágenes de las moléculas sobre las películas para determinar la posición de los marcadores de átomos pesados y para extraer información de secuencias de bases del ADN. El método se describe además en la publicación de patente PCT WO 2009/046445. El método permite la secuenciación de genomas humanos completos en menos de diez minutos.

En una realización, la tecnología de secuenciación de ADN es la secuenciación de moléculas individuales Ion Torrent, que junta la tecnología de semiconductores con una química de secuenciación simple para traducir directamente la información químicamente codificada (A, C, G, T) en información digital (0, 1) en un chip semiconductor. En la naturaleza, cuando un nucleótido se incorpora en una cadena de ADN por una polimerasa, se libera un ion hidrógeno como subproducto. Ion Torrent usa una matriz de alta densidad de pocillos micromecanizados para realizar este proceso bioquímico en un modo masivo en paralelo. Cada pocillo contiene una molécula de ADN diferente. Debajo de los pocillos está una capa sensible a los iones y debajo de ella un sensor de iones. Cuando un nucleótido, por ejemplo, una C, se añade a un molde de ADN y entonces se incorpora en una cadena de ADN, se liberará un ion hidrógeno. La carga de ese ion cambiará el pH de la disolución, que se puede identificar por el sensor iónico de Ion Torrent. El secuenciador - esencialmente el pH-metro en estado sólido más pequeño del mundo - identifica una base, que pasa directamente de información química a información digital. El secuenciador Ion personal Genome Machine (PGM™) inunda entonces secuencialmente el chip con un nucleótido después de otro. Si el siguiente nucleótido que inunda el chip no es un emparejamiento, no se registrará cambio de tensión y no se identificará la base. Si existen dos bases idénticas en la cadena de ADN, la tensión será el doble, y el chip registrará dos bases idénticas identificadas. La identificación directa permite el registro de la incorporación de nucleótidos en segundos.

Otros métodos de secuenciación incluyen PCR digital y secuenciación por hibridación. Se pueden usar la reacción en cadena de la polimerasa digital (PCR digital o dPCR) para identificar y cuantificar directamente ácidos nucleicos en una muestra. La PCR digital se puede realizar en una emulsión. Los ácidos nucleicos individuales se separan, por ejemplo, en un dispositivo de cámara microfluídica, y cada ácido nucleico se puede amplificar individualmente por PCR. Los ácidos nucleicos se pueden separar tal que exista un promedio de aproximadamente 0,5 ácidos nucleicos/pocillo, o no más de un ácido nucleico/pocillo. Se pueden usar diferentes sondas para distinguir alelos fetales y alelos maternos. Se pueden enumerar los alelos para determinar el número de copias. En la secuenciación por hibridación, la hibridación comprende poner en contacto la pluralidad de secuencias de polinucleótidos con una pluralidad de sondas de polinucleótidos, en donde cada una de la pluralidad de sondas de polinucleótidos se puede unir opcionalmente a un sustrato. El sustrato podría ser la superficie plana que comprende una matriz de secuencias de nucleótidos conocidas. El patrón de hibridación con la matriz se puede usar para determinar las secuencias de polinucleótidos presentes en la muestra. En otras realizaciones, cada sonda se une a una perla, por ejemplo, una perla magnética o similares. Se puede identificar la hibridación con las perlas y usar para identificar la pluralidad de secuencias de polinucleótidos dentro de la muestra.

En una realización, el método emplea secuenciación masiva en paralelo de millones de fragmentos de ADN usando secuenciación por síntesis en Illumina y química de secuenciación reversible basada en terminadores (por ejemplo, como se describe en Bentley et al., Nature 6:53-59 [2009]). El molde de ADN puede ser ADN genómico, por ejemplo, ADNsc. En algunas realizaciones, el ADN genómico de las células aisladas se usa como molde, y se fragmenta en longitudes de varios cientos de pares de bases. En otras realizaciones, el ADNsc se usa como molde, y no se requiere la fragmentación ya que el ADNsc existe como fragmentos cortos. Por ejemplo, el ADNsc fetal circula en la circulación sanguínea como fragmentos de <300 pb, y se ha estimado que el ADNsc materno circula como fragmentos de entre aproximadamente 0,5 y 1 Kb (Li et al., Clin Chem, 50: 1002-1011 [2004]). La tecnología de secuenciación de Illumina se basa en la fijación de ADN genómico fragmentado a una superficie plana ópticamente transparente sobre la que están unidos anclajes de oligonucleótidos. El molde de ADN se repara en los extremos para generar extremos romos fosforilados en 5', y se usa la actividad de polimerasa del fragmento de Klenow para añadir una única base A al extremo 3' de los fragmentos de ADN fosforilados romos. Esta adición prepara los fragmentos de ADN para la ligación con adaptadores de oligonucleótidos, que tienen un nucleótido protuberante de una única base de T en su extremo 3' para aumentar la eficiencia de ligación. Los oligonucleótidos del adaptador son complementarios a los anclajes de la celda de flujo. En condiciones de dilución limitante, se añade molde de ADN monocatenario modificado por adaptador a la celda de flujo y se inmoviliza por hibridación a los anclajes. Se extienden los fragmentos de ADN unidos y se amplifican por puente para crear una celda de flujo de secuenciación de densidad ultra-alta con cientos de millones de clústeres, conteniendo cada uno ~1.000 copias del mismo molde. Las moléculas de ADN amplificado en clústeres se secuencian usando una robusta tecnología de secuenciación por síntesis de ADN de cuatro colores que emplea terminadores reversibles con colorantes fluorescentes extraíbles. La identificación de fluorescencia de alta sensibilidad se logra usando excitación láser y óptica de reflexión interna total. Las lecturas de secuencia corta de aproximadamente 20-

40 pb, por ejemplo 36 pb, se alinean contra un genoma de referencia de repeticiones enmascaradas y las diferencias genéticas se identifican usando un software de canalización de análisis de datos especialmente desarrollado. Después de finalizar la primera lectura, los moldes se pueden regenerar *in situ* para permitir una segunda lectura desde el extremo opuesto de los fragmentos. Así, según el método se usa o la secuenciación de extremo único o de extremos emparejados de los fragmentos de ADN. Se realiza la secuenciación parcial de fragmentos de ADN presentes en la muestra, y se cuentan marcas de secuencia que comprenden lecturas de longitud predeterminada, por ejemplo 36 pb, que se cartografían con un genoma de referencia conocido.

La longitud de la lectura de secuencia se asocia con la tecnología de secuenciación particular. Los métodos de NGS proporcionan lecturas de secuencia que varían en tamaño de decenas a cientos de pares de bases. En algunas realizaciones del método descrito en el presente documento, las lecturas de secuencia tienen aproximadamente 20 pb, aproximadamente 25 pb, aproximadamente 30 pb, aproximadamente 35 pb, aproximadamente 40 pb, aproximadamente 45 pb, aproximadamente 50 pb, aproximadamente 55 pb, aproximadamente 60 pb, aproximadamente 65 pb, aproximadamente 70 pb, aproximadamente 75 pb, aproximadamente 80 pb, aproximadamente 85 pb, aproximadamente 90 pb, aproximadamente 95 pb, aproximadamente 100 pb, aproximadamente 110 pb, aproximadamente 120 pb, aproximadamente 130, aproximadamente 140 pb, aproximadamente 150 pb, aproximadamente 200 pb, aproximadamente 250 pb, aproximadamente 300 pb, aproximadamente 350 pb, aproximadamente 400 pb, aproximadamente 450 pb, aproximadamente 500 pb, aproximadamente 550 pb o aproximadamente 600 pb. Se espera que los avances tecnológicos permitan las lecturas de un único extremo de más de 500 pb que permite lecturas superiores a aproximadamente 1000 pb cuando se generan lecturas de extremos emparejados. En una realización, las lecturas de secuencias tienen 36 pb. Otros métodos de secuenciación que se pueden emplear por el método de la invención incluyen los métodos de secuenciación de moléculas individuales que pueden secuenciar moléculas de ácidos nucleicos >5000 pb. La cantidad masiva de la salida de secuencia se transfiere por una canalización del análisis que transforma la salida de obtención de imágenes primaria del secuenciador en lazos de bases. Un paquete de algoritmos integrados realiza las etapas de transformación de datos principales centrales: análisis de imágenes, puntuación de intensidad, identificación de bases y alineamiento.

En una realización, se realiza la secuenciación de ácidos nucleicos polimórficos diana amplificados, y se cuentan marcas de secuencia que comprenden lecturas de longitud predeterminada, por ejemplo 36 pb, que se cartografían con un genoma de referencia conocido. Solo las lecturas de secuencia que se alinean de forma única con un genoma de referencia se cuentan como marcas de secuencia. En una realización, el genoma de referencia es un genoma de secuencias diana artificial que comprende las secuencias de los ácidos nucleicos diana polimórficos, por ejemplo, SNP. En una realización, el genoma de referencia es un genoma de referencia de SNP artificial. En otra realización, el genoma de referencia es un genoma de referencia de STR artificial. En otra realización más, el genoma de referencia es un genoma de referencia de STR en tándem artificial. Los genomas de referencia artificiales se pueden compilar usando las secuencias de los ácidos nucleicos polimórficos diana. Los genomas de referencia artificiales pueden comprender una secuencia diana polimórfica que comprende cada una uno o más tipos diferentes de secuencias polimórficas. Por ejemplo, un genoma de referencia artificial puede comprender secuencias polimórficas que comprenden alelos de SNP y/o STR. En una realización, el genoma de referencia es la secuencia NCBI36/hg18 del genoma de referencia humano, que está disponible en la malla multimedia mundial en genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?org=Human&db=hg18&hgsid=166260105. Otras fuentes de información de secuencia pública incluyen GenBank, dbEST, dbSTS, EMBL (European Molecular Biology Laboratory) y DDBJ (DNA Databank of Japan). En otra realización, el genoma de referencia comprende la secuencia NCBI36/hg18 del genoma de referencia humano y un genoma de secuencias diana artificial, que incluye las secuencias polimórficas diana, por ejemplo, un genoma de SNP. La cartografía de las marcas de secuencia se logra comparando la secuencia de la marca cartografiada con la secuencia del genoma de referencia para determinar el origen cromosómico de la molécula de ácido nucleico secuenciada (por ejemplo, ADNsc), y no se necesita información de secuencia genética específica. Están disponibles varios algoritmos informáticos para alinear secuencias, que incluyen, sin limitación, BLAST (Altschul et al., 1990), BLITZ (MPsrch) (Sturrock & Collins, 1993), FASTA (Person & Lipman, 1988), BOWTIE (Langmead et al., Genome Biology 10:R25.1-R25.10 [2009]) o ELAND (Illumina, Inc., San Diego, CA, EE. UU.). En una realización, se secuencian un extremo de las copias clonalmente expandidas de las moléculas de ADNsc plasmático y se procesa por análisis de alineamiento bioinformático para el Genome Analyzer de Illumina, que usa el software Efficient Large-Scale Alignment of Nucleotide Databases (ELAND). En realizaciones del método que comprenden determinar la presencia o ausencia de una aneuploidía y fracción fetal usando métodos de secuenciación de NGS, el análisis de la información de secuenciación para la determinación de aneuploidía puede permitir un pequeño grado de desapareamiento (0-2 desapareamientos por marca de secuencia) para explicar polimorfismos menores que pueden existir entre el genoma de referencia y los genomas en la muestra mixta. El análisis de información de secuenciación para la determinación de la fracción fetal puede permitir un grado pequeño de desapareamiento dependiendo de la secuencia polimórfica. Por ejemplo, se puede permitir un grado pequeño de desapareamiento si la secuencia polimórfica es STR. En casos cuando la secuencia polimórfica es un SNP, se cuenta primero toda la secuencia que se aparea exactamente con cualquiera de los dos alelos en el sitio de SNP y se filtra de las lecturas restantes, para lo que se puede permitir un pequeño grado de desapareamiento. La cuantificación del número de lecturas de secuencia que se alinean con cada cromosoma para determinar las aneuploidías cromosómicas se puede determinar como se describe en el presente documento, o usando análisis alternativos que emplean la normalización de la mediana del número de marcas de secuencia para un cromosoma de interés con la mediana del número de marcas para cada uno de los otros autosomas.

(Fan et al., Proc Natl Acad Sci 105:16266-16271 [2008]), o que comparan el número de lecturas únicas que se alinean con cada cromosoma con el número total de lecturas que se alinean con todos los cromosomas para obtener un porcentaje de representación genómica para cada cromosoma. Se genera una "puntuación z" para representar la diferencia entre la representación genómica del porcentaje del cromosoma de interés y la representación del porcentaje medio para el mismo cromosoma entre un grupo de control euploide, dividido entre la desviación estándar (Chiu et al., Clin Chem 56:459-463 [2010]). En otra realización, la información de secuenciación se puede determinar como se describe en la solicitud de patente provisional de EE. UU. titulada "Normalizing Biological Assays", expediente N° 32047-768,101, presentada el 19 de enero de 2010.

El análisis de la información de secuenciación para la determinación de la fracción fetal puede permitir un pequeño grado de desapareamiento dependiendo de la secuencia polimórfica. Por ejemplo, se puede permitir un pequeño grado de desapareamiento si la secuencia polimórfica es una STR. En casos cuando la secuencia polimórfica sea un SNP, se cuentan primero todas las secuencias que se aparean exactamente con cualquiera de los dos alelos en el sitio de SNP y se filtran de las lecturas restantes, para las que se puede permitir un pequeño grado de desapareamiento. Se puede usar el método presente para determinar la fracción fetal por secuenciación de ácidos nucleicos en combinación con otros métodos.

En la etapa **160**, se determina la fracción fetal basándose en el número total de marcas que se cartografían con el primer alelo y el número total de marcas que se cartografían con el segundo alelo en un sitio polimórfico informativo, por ejemplo, un SNP, contenido en un genoma de referencia. Por ejemplo, el genoma de referencia es un genoma de secuencia diana artificial que engloba las secuencias polimórficas que comprenden los SNP rs560681, rs1109037, rs9866013, rs13182883, rs13218440, rs7041158, rs740598, rs10773760, rs4530059, rs7205345, rs8078417, rs576261, rs2567608, rs430046, rs9951171, rs338882, rs10776839, rs9905977, rs1277284, rs258684, rs1347696, rs508485, rs9788670, rs8137254, rs3143, rs2182957, rs3739005 y rs530022. En una realización, el genoma de referencia artificial incluye las secuencias polimórficas diana de SEQ ID NO: 1-56 (véase el Ejemplo 3).

En otra realización, el genoma artificial es un genoma de secuencia diana artificial que engloba secuencias polimórficas que comprenden los SNP en tándem rs7277033-rs2110153; rs2822654-rs1882882; rs368657-rs376635; rs2822731-rs2822732; rs1475881-rs7275487; rs1735976-rs2827016; rs447340-rs2824097; rs418989-rs13047336; rs987980-rs987981; rs4143392-rs4143391; rs1691324-rs13050434; rs11909758-rs9980111; rs2826842-rs232414; rs1980969-rs1980970; rs9978999-rs9979175; rs1034346-rs12481852; rs7509629-rs2828358; rs4817013-rs7277036; rs9981121-rs2829696; rs455921-rs2898102; rs2898102-rs458848; rs961301-rs2830208; rs2174536-rs458076; rs11088023-rs11088024; rs1011734-rs1011733; rs2831244-rs9789838; rs8132769-rs2831440; rs8134080-rs2831524; rs4817219-rs4817220; rs2250911-rs2250997; rs2831899-rs2831900; rs2831902-rs2831903; rs11088086-rs2251447; rs2832040-rs11088088; rs2832141-rs2246777; rs2832959-rs9980934; rs2833734-rs2833735; rs933121-rs933122; rs2834140-rs12626953; rs2834485-rs3453; rs9974986-rs2834703; rs2776266-rs2835001; rs1984014-rs1984015; rs7281674-rs2835316; rs13047304-rs13047322; rs2835545-rs4816551; rs2835735-rs2835736; rs13047608-rs2835826; rs2836550-rs2212596; rs2836660-rs2836661; rs465612-rs8131220; rs9980072-rs8130031; rs418359-rs2836926; rs7278447-rs7278858; rs385787-rs367001; rs367001-rs386095; rs2837296-rs2837297; y rs2837381-rs4816672.

En otro caso de la divulgación, el genoma diana artificial engloba secuencias polimórficas que comprenden STR seleccionadas de CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, PentaD, PentaE, D2S1338, D1S1677, D2S441, D4S2364, D10S1248, D14S1434, D22S1045, D22S1045, D20S1082, D20S482, D18S853, D17S1301, D17S974, D14S1434, D12ATA63, D11S4463, D10S1435, D10S1248, D9S2157, D9S1122, D8S1115, D6S1017, D6S474, D5S2500, D5S2500, D4S2408, D4S2364, D3S4529, D3S3053, D2S1776, D2S441, D1S1677, D1S1627 y DIGATA113. La composición del genoma de secuencias diana artificiales variará dependiendo de las secuencias polimórficas que se usen para determinar la fracción fetal. Por consiguiente, un genoma de secuencias diana artificiales no se limita al SNP, SNP en tándem o secuencias de STR ejemplificadas en el presente documento.

El sitio polimórfico informativo, por ejemplo, SNP, se identifica por la diferencia en las secuencias alélicas y la cantidad de cada uno de los posibles alelos. El ADNsc fetal está presente a una concentración que es <10 % del ADNsc materno. Así, la presencia de una contribución secundaria de un alelo a la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos con respecto a la principal contribución del alelo materno se puede asignar al feto. Los alelos que derivan del genoma materno se denominan en el presente documento alelos principales, y los alelos que derivan del genoma fetal se denominan en el presente documento alelos secundarios. Los alelos que se representan por niveles similares de marcas de secuencia cartografiadas representan alelos maternos. Los resultados de una amplificación múltiple a modo de ejemplo de ácidos nucleicos diana que comprenden SNP y derivados de una muestra de plasma materno se muestran en la **Figura 2**. Los SNP informativos se diferencian del cambio de un solo nucleótido en un sitio polimórfico, y los alelos fetales se diferencian por su contribución secundaria relativa a la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos en la muestra cuando se comparan con la contribución principal a la mezcla por los ácidos nucleicos maternos. Por consiguiente, la abundancia relativa de ADNsc fetal en la muestra materna se determina como un parámetro del número total de marcas de secuencia únicas cartografiadas con la secuencia de ácidos nucleicos diana en un genoma de referencia para cada uno de los dos alelos del sitio polimórfico predeterminado. En una realización, la fracción de ácidos nucleicos fetales en la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos se calcula para cada uno del alelo informativo (alelo_x) del siguiente modo:

% de alelo_x de la fracción fetal = ((ΣMarcas de secuencia fetal para el alelo_x) / (ΣMarcas de secuencia materna para el alelo_x)) x 100

y la fracción fetal para la muestra se calcula como el promedio de la fracción fetal de todos los alelos informativos. Opcionalmente, la fracción de ácidos nucleicos fetales en la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos se calcula para cada uno del alelo informativo (alelo_x) del siguiente modo:

% de alelo_x de la fracción fetal = ((2 X ΣMarcas de secuencia fetal para el alelo_x) / (ΣMarcas de secuencia materna para el alelo_x)) x 100,

para compensar la presencia de 2 alelos fetales, estando uno enmascarado por el fondo materno.

El porcentaje de fracción fetal se calcula para al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más alelos informativos. En una realización, la fracción fetal es la fracción fetal promedio determinada para al menos 3 alelos informativos.

La **Figura 3** muestra un diagrama de flujo de métodos alternativos por los que se puede determinar la fracción fetal a partir de ácidos nucleicos diana amplificados que se han combinado con muestra de ADNsc fetal y materno sin amplificar para permitir la determinación simultánea de fracción fetal y la presencia o ausencia de aneuploidía fetal enriqueciendo la muestra materna que comprende ácidos nucleicos fetales y maternos para ácidos nucleicos diana polimórficos. En una realización, la muestra que se enriquece es la fracción de plasma de una muestra de sangre (a). Por ejemplo, se usa una porción de una muestra de plasma materna original para amplificar secuencias de ácidos nucleicos diana. Posteriormente, algo del producto amplificado o todo se combina con la muestra de plasma original sin amplificar restante, enriqueciéndose así (véase el Ejemplo 7). En otra realización, la muestra que se enriquece es la muestra de ADNsc purificado que se extrae de plasma (b). Por ejemplo, el enriquecimiento comprende amplificar los ácidos nucleicos diana que están contenidos en una porción de una muestra original de mezcla purificada de ácidos nucleicos fetales y maternos, por ejemplo, ADNsc que se ha purificado de una muestra materna de plasma, y posteriormente combinar algo del producto amplificado o todo con la muestra purificada original sin amplificar restante (véase el Ejemplo 6). En otra realización más, la muestra que se enriquece es una muestra de bibliotecas de secuenciación preparada a partir de una mezcla purificada de ácidos nucleicos fetales y maternos (c). Por ejemplo, el enriquecimiento comprende amplificar los ácidos nucleicos diana que están contenidos en una porción de una muestra original de mezcla purificada de ácidos nucleicos fetales y maternos, por ejemplo ADNsc que se ha purificado de una muestra materna de plasma, preparar una primera biblioteca de secuenciación de secuencias de ácidos nucleicos sin amplificar, preparar una segunda biblioteca de secuenciación de ácidos nucleicos diana polimórficos amplificados y posteriormente combinar algo de la segunda biblioteca de secuenciación o toda con algo de la primera biblioteca de secuenciación o toda (véase el Ejemplo 5). La cantidad de producto amplificado que se usa para enriquecer la muestra original se selecciona para obtener información de secuenciación suficiente para determinar tanto la presencia como la ausencia de aneuploidía y la fracción fetal de la misma serie de secuenciación. Se cartografían al menos aproximadamente el 3 %, al menos aproximadamente el 5 %, al menos aproximadamente el 7 %, al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 % o más del número total de marcas de secuencia obtenidas de la secuenciación para determinar la fracción fetal. La secuenciación de la biblioteca generada siguiendo uno cualquiera de los métodos representados en la **Figura 3** proporciona marcas de secuencia derivadas de los ácidos nucleicos diana amplificados y marcas derivadas de la muestra materna sin amplificar original. La fracción fetal se calcula a partir del número de marcas cartografiadas con un genoma de referencia artificial, y la presencia o ausencia de aneuploidía se determina a partir del número de marcas que se cartografían con el genoma del sujeto, por ejemplo, el genoma humano.

Un método alternativo de determinación de la fracción fetal de ácidos nucleicos diana polimórficos amplificados en la etapa **130** de la **Figura 1** usa separación por tamaño de ácidos nucleicos diana polimórficos amplificados que comprenden STR (etapa **150** de la **Figura 1**). Como se ha descrito anteriormente, el carácter polimórfico de un locus de STR se debe a la variación en el número de unidades repetidas en tándem entre alelos. Debido al alto polimorfismo de STR, la mayoría de los individuos serán heterocigóticos para STR. La amplificación de una STR dará como resultado uno o dos productos de PCR en la mayoría de las muestras. En muestras obtenidas de mujeres embarazadas, por ejemplo, muestras de plasma, la amplificación de una STR dará como resultado uno o dos productos de PCR principales, que corresponden a uno o dos alelos maternos que incluyen un alelo fetal heredado de la madre y un tercer alelo fetal heredado del padre que se detecta en una STR informativa.

La amplificación se dirige a STR que son miniSTR como se describe en el presente documento que tienen menos de aproximadamente 300 pares de bases y que se amplifican en una reacción de PCR múltiplex, que permite la amplificación simultánea de múltiples loci en una única reacción. Los cebadores se marcan con diferentes colorantes fluorescentes que emiten cada uno fluorescencia a una longitud de onda diferente, por ejemplo, 6FAM™, VIC™, NED™ y PET™, y el número de unidades repetidas para cada STR marcada fluorescentemente en los productos de PCR resultantes se detecta tras su separación y tamaño preciso que se logra por electroforesis en bloque o capilar. En un caso, se usa electroforesis capilar, y se puede realizar en canales microfabricados o matrices capilares.

Alternativamente, se usan métodos que utilizan espectrometría de masas y tecnología de micromatrices. Se puede realizar análisis de STR múltiplex para determinar la fracción fetal usando kits comercialmente disponibles, por ejemplo, el kit de amplificación por PCR AmpF ℓ STR $\circ$ Identifiler $\circ$ (**Figura 4**) y el kit de amplificación por PCR AmpF ℓ STR $\circ$ MiniFiler $\circ$ (**Figura 5**) (Applied Biosystems, Foster City, Calif.). El kit de amplificación por PCR AmpF ℓ STR $\circ$ MiniFiler $\circ$ se diseñó para amplificar como miniSTR ocho de los mayores loci dimensionados en el kit de amplificación por PCR AmpF ℓ STR $\circ$ Identifiler $\circ$. Junto con el locus de identificación de sexo amelogenina, el múltiplex de nueve locus permite la amplificación simultánea de loci de muestras de ADNsc (véase el Ejemplo 10).

En un caso de la divulgación, el análisis de STR múltiplex para determinar la fracción fetal se realiza amplificando ácidos nucleicos diana polimórficos presentes en una muestra materna de plasma que comprende cada una una miniSTR seleccionada de CSF1PO, FGA, TH01, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D2S1338, Penta D, Penta E, D22S1045, D20S1082, D20S482, D18S853, D17S1301, D17S974, D14S1434, D12ATA63, D11S4463, D10S1435, D10S1248, D9S2157, D9S1122, D8S1115, D6S1017, D6S474, D5S2500, D4S2408, D4S2364, D3S4529, D3S3053, D2S1776, D2S441, D1S1677, D1S1627 y D1GATA113. En otro caso de la divulgación, el análisis de STR múltiplex para determinar la fracción fetal se realiza amplificando ácidos nucleicos diana polimórficos presentes en una muestra materna de plasma para el panel de miniSTR: CSF1PO, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338, D7S820 y FGA. Las miniSTR se pueden localizar en el mismo cromosoma o en diferentes. El método es un método independiente del sexo fetal. Por lo tanto, en algunos casos de la divulgación, las miniSTR se localizan en cromosomas distintos del cromosoma Y. En otros casos de la divulgación, las miniSTR se localizan en cromosomas distintos de los cromosomas 13, 18, 21 o X, es decir, cromosomas que podrían causar una aneuploidía.

Las muestras de plasma materno contienen frecuentemente menos de 100 pg de ADNsc. Las muestras de ADN de bajo número de copias pueden caer por debajo de las limitaciones de sensibilidad de los métodos de análisis de STR. Las muestras no tratables se pueden hacer susceptibles aumentando el número de ADNsc de partida disponible para el posterior análisis de STR por una estrategia de amplificación del genoma completo. En una realización, la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos se puede preamplificar antes de que se detecten o cuantifiquen los alelos. Por ejemplo, el ADN sin células de molde se puede amplificar por PCR. El ácido nucleico se puede amplificar durante aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 ciclos. El ácido nucleico se puede amplificar durante aproximadamente 1-10 ciclos, aproximadamente 1-20 ciclos, aproximadamente 1-30 ciclos, aproximadamente 1-40 ciclos, aproximadamente 5-15 ciclos, aproximadamente 5-20 ciclos, aproximadamente 5-30 ciclos, aproximadamente 5-40 ciclos, aproximadamente 10-15 ciclos, aproximadamente 10-20 ciclos, aproximadamente 10-30 ciclos, aproximadamente 10-40 ciclos, aproximadamente 20-30 ciclos, aproximadamente 20-40 ciclos o aproximadamente 30-40 ciclos. La cantidad de ácido nucleico de molde que se puede amplificar puede ser aproximadamente 10-1000 pg, 25-1000 pg, 50-1000 pg, 100-1000 pg, 200-1000 pg, 300-1000 pg, 400-1000 pg, 500-1000 pg, 600-1000 pg, 700-1000 pg o 800-1000 pg. Después de la preamplificación, los ácidos nucleicos se pueden diluir antes de detectar o cuantificar los alelos. Se puede usar preamplificación para aumentar la sensibilidad de detección de los alelos en una muestra, por ejemplo, una muestra materna (Ejemplo 11). En otra realización, el genotipado de un polimorfismo no necesita requerir una etapa de pre-amplificación. Se puede usar cualquier método de amplificación basado en PCR para preamplificar el ADNsc. Los métodos de amplificación incluyen, pero no se limitan a, estrategias de amplificación de genoma completo que incluyen métodos tales como preamplificación por extensión de cebadores, PCR cebada con oligonucleótidos degenerados (DOP-PCR), bajos fragmentos de bajas cantidades de DOP-PCR, PCR de preamplificación por extensión con cebadores mejorados (IPEP PCR) y preamplificación por extensión con cebadores mejorados modificados (mIPEP). Así, en una realización, el método que se usa para determinar la fracción fetal en una muestra materna, por ejemplo una muestra de plasma, comprende preamplificar la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos presentes en la muestra de ADNsc plasmática usando un método de amplificación de genoma completo, amplificar una pluralidad de ácidos nucleicos polimórficos en dicha mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos, en donde cada uno de dicho al menos un ácido nucleico polimórfico comprende una STR; determinar la cantidad de alelos de STR fetales y maternos de al menos un ácido nucleico polimórfico; y calcular la fracción fetal de la cantidad de alelos de STR fetales y maternos. Tras la preamplificación, se realiza análisis de STR múltiple para determinar la fracción fetal amplificando los ácidos nucleicos diana polimórficos presentes en una muestra materna de plasma que comprende cada una una miniSTR seleccionada de CSF1PO, FGA, TH01, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D2S1338, Penta D, Penta E, D22S1045, D20S1082, D20S482, D18S853, D17S1301, D17S974, D14S1434, D12ATA63, D11S4463, D10S1435, D10S1248, D9S2157, D9S1122, D8S1115, D6S1017, D6S474, D5S2500, D4S2408, D4S2364, D3S4529, D3S3053, D2S1776, D2S441, D1S1677, D1S1627 y D1GATA113. Alternativamente, el análisis de STR múltiplex para determinar la fracción fetal se realiza amplificando ácidos nucleicos diana polimórficos para el panel de miniSTR: CSF1PO, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338, D7S820 y FGA.

Aplicaciones

Los métodos descritos en el presente documento son aplicables al diagnóstico o pronóstico de diversas patologías que incluyen, pero no se limitan a, cáncer, trastornos genéticos e infección. Se puede usar la fracción fetal de ácido nucleico en una muestra materna para determinar una anomalía cromosómica. Los ejemplos de anomalías cromosómicas incluyen, por ejemplo, aneuploidía, monosomía, trisomía, duplicación, inversión, delección, poliploidía, delección de una parte de un cromosoma, adición, adición de una parte de cromosoma, inserción, un fragmento de un

cromosoma, una región de un cromosoma, transposición cromosómica y translocación. Por ejemplo, aneuploidía puede referirse a la aparición de uno o más cromosomas adicionales o ausentes en una muestra.

Los ejemplos de afecciones fetales que se pueden determinar usando los métodos de la invención proporcionada incluyen, por ejemplo, síndrome de Angelman (15q11.2-q13), síndrome del maullido (5p-), síndrome de DiGeorge y síndrome velocardiofacial (22q11.2), síndrome de Miller-Dieker (17 p13.3), síndrome de Prader-Willi (15q11.2-q13), retinoblastoma (13q14), síndrome de Smith-Magenis (17 p11.2), trisomía 13, trisomía 16, trisomía 18, trisomía 21 (síndrome de Down), triploidía, síndrome de Williams (7q 11.23) y síndrome de Wolf-Hirschhorn (4p-). Los ejemplos de anomalías de cromosomas sexuales que se pueden detectar por los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, síndrome de Kallman (Xp22.3), deficiencia de sulfato esteroide (STS) (Xp22.3), ictiosis ligada al X (Xp22.3), síndrome de Klinefelter (XXY), síndrome X frágil, síndrome de Turner, metahembras o trisomía X, y monosomía X.

En una realización, la información de la fracción fetal se puede usar para establecer umbrales y estimar el tamaño de muestra mínimo en la detección de aneuploidía. Dicho uso se describe en el Ejemplo 7 más adelante. La información de la fracción fetal se puede usar junto con la información de secuenciación. Por ejemplo, se pueden usar ácidos nucleicos de una muestra sin células, por ejemplo, una muestra de plasma o suero materno, para enumerar las secuencias en una muestra. Las secuencias se pueden enumerar usando cualquiera de las técnicas de secuenciación descritas anteriormente. El conocimiento de la fracción fetal se puede usar para establecer umbrales de "corte" para identificar estados de "aneuploidía", "normales" o "marginales/no identificados" (inciertos). Entonces, se pueden realizar cálculos para estimar el número mínimo de secuencias requeridas para lograr una sensibilidad adecuada (es decir, probabilidad de identificar correctamente un estado de aneuploidía).

La determinación de la fracción fetal según el método de la invención se puede poner en práctica en combinación con cualquier método usado para determinar la presencia o ausencia de aneuploidía fetal en una muestra materna de plasma. Además del método descrito en el presente documento para la determinación de aneuploidía, se puede usar la determinación de la fracción fetal en la secuenciación masiva en paralelo junto con otros métodos de determinación de la aneuploidía fetal, por ejemplo, según los métodos descritos en las publicaciones de solicitud de patente de EE. UU. N° US 2007/0202525A1; US2010/0112575A1, US 2009/0087847A1; US2009/0029377A1; US 2008/0220422A1; US2008/0138809A1, US2008/0153090A1 y la patente de EE. UU. 7.645.576. Los métodos también se pueden combinar con ensayos para determinar otras afecciones prenatales asociadas a la madre y/o al feto. Por ejemplo, el método se puede usar junto con análisis prenatales, por ejemplo, como se describen en las publicaciones de solicitud de patente de EE. UU. N° US2010/0112590A1, US2009/0162842A1, US2007/0207466A1 y US2001/0051341A1.

Los métodos descritos se pueden aplicar a determinar la fracción de una población cualquiera de ácidos nucleicos en una mezcla de ácidos nucleicos contribuida por diferentes genomas. Además de determinar la fracción contribuida a una muestra por dos individuos, por ejemplo, los diferentes genomas son contribuidos por el feto y la madre que lleva el feto, los métodos se pueden usar para determinar la fracción de un genoma en una mezcla derivada de dos células diferentes de un individuo, por ejemplo, los genomas son contribuidos a la muestra por células cancerosas aneuploides y células euploides normales del mismo sujeto.

Composiciones y kits

La presente divulgación también se refiere a composiciones y kits o sistemas de reactivo útiles para poner en práctica los métodos descritos en el presente documento.

Las composiciones desveladas en el presente documento se pueden incluir en kits para mezclas de secuenciación masiva en paralelo de moléculas de ácidos nucleicos fetales y maternos, por ejemplo, ADNsc, presentes en una muestra materna, por ejemplo, una muestra de plasma. Los kits comprenden una composición que comprende al menos un conjunto de cebadores para amplificar al menos un ácido nucleico diana polimórfico en dichas moléculas de ácidos nucleicos fetales y maternas. Los ácidos nucleicos diana polimórficos pueden comprender sin limitación polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), SNP en tándem, deleciones o inserciones de múltiples bases a pequeña escala, denominadas IN-DELS (también denominados polimorfismos de deleción-inserción o DIP), polimorfismos de múltiples nucleótidos (MNP), repeticiones en tándem cortas (STR), polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), o un polimorfismo que comprende cualquier otro cambio de secuencia en un cromosoma. Los métodos de secuenciación que utilizan las composiciones son métodos de NGS de moléculas de ácidos nucleicos individuales o moléculas de ácidos nucleicos clonalmente amplificadas como se describe en el presente documento. Los métodos de secuenciación masiva en paralelo de NGS incluyen pirosecuenciación, secuenciación por síntesis con terminadores reversibles con colorante, secuenciación en tiempo real, o secuenciación por ligación de sondas de oligonucleótidos.

En un caso, las composiciones incluyen cebadores para amplificar los ácidos nucleicos diana polimórficos que comprenden cada uno al menos un SNP. En un caso, el al menos un SNP se selecciona de los SNP rs560681, rs1109037, rs9866013, rs13182883, rs13218440, rs7041158, rs740598, rs10773760, rs4530059, rs7205345, rs8078417, rs576261, rs2567608, rs430046, rs9951171, rs338882, rs10776839, rs9905977, rs1277284, rs258684,

rs1347696, rs508485, rs9788670, rs8137254, rs3143, rs2182957, rs3739005, y rs530022. Los conjuntos de cebadores a modo de ejemplo correspondientes para amplificar los SNP se proporcionan como SEQ ID NO: 57-112.

En otro caso, la composición incluye cebadores para amplificar ácidos nucleicos diana polimórficos que comprenden cada uno al menos un SNP en tándem. En un caso, la composición incluye cebadores para amplificar SNP en tándem. En un caso, la composición incluye cebadores para amplificar los SNP en tándem desvelados en el presente documento, y la composición comprende los cebadores a modo de ejemplo correspondientes de SEQ ID NO: 197-310.

Los kits pueden contener una combinación de reactivo que incluye los elementos requeridos para realizar un ensayo según los métodos desvelados en el presente documento. El sistema de reactivos se presenta en una forma comercialmente envasada, como una composición o mezcla donde la compatibilidad de los reactivos permitirá, en una configuración de dispositivo de prueba, o más normalmente como un kit de prueba, es decir, una combinación envasada de uno o más recipientes, dispositivos o similares que contienen los reactivos necesarios, y que incluyen preferentemente instrucciones por escrito para la realización de los ensayos. El kit desvelado en el presente documento se puede adaptar para cualquier configuración de ensayo y puede incluir composiciones para realizar cualquiera de los diversos formatos de ensayo descritos en el presente documento. Los kits para determinar la fracción fetal comprenden composiciones que incluyen conjuntos de cebadores para amplificar ácidos nucleicos polimórficos presentes en una muestra materna como se describe y, si procede, se desvelan reactivos para purificar ADNsc en el presente documento. En un caso, un kit diseñado para permitir la cuantificación de secuencias polimórficas fetales y maternas, por ejemplo, STR y/o SNP y/o SNP en tándem, en una muestra de ADNsc plasmática, incluye al menos un conjunto de oligonucleótidos específicos de alelo específicos para un SNP seleccionado y/o región de repeticiones en tándem. Preferentemente, el kit incluye una pluralidad de conjuntos de cebadores para amplificar un panel de secuencias polimórficas. Un kit puede comprender otros reactivos y/o información para el genotipado o la cuantificación de alelos en una muestra (por ejemplo, tampones, nucleótidos, instrucciones). Los kits también incluyen una pluralidad de recipientes de tampones y reactivos apropiados.

Ejemplo 1

Determinación de la fracción fetal usando secuenciación masiva en paralelo: procesamiento de muestras y extracción de ADNsc

Se recogieron muestras de sangre periférica de mujeres embarazadas en su primer o segundo trimestre de embarazo y que se consideró que estaban en riesgo de aneuploidía fetal. Se obtuvo el consentimiento informado de cada participante antes de extraer la sangre. Se recogió la sangre antes del muestreo de amniocentesis o de vellosidades coriónicas. Se realizó el análisis de cariotipo usando las muestras de vellosidades coriónicas o amniocentesis para confirmar el cariotipo fetal.

Se recogió en tubos ACD la sangre periférica extraída de cada sujeto. Se transfirió un tubo de muestra de sangre (aproximadamente 6-9 mL/tubo) a un tubo de 15 mL de centrifugadora de baja velocidad. La sangre se centrifugó a 2640 rpm, 4 °C, durante 10 min usando la centrifugadora Beckman Allegra 6 R y modelo de rotor GA 3.8.

Para la extracción de plasma sin células, se transfirió la capa de plasma superior a un tubo de 15 mL de centrifugadora de alta velocidad y se centrifugó a 16000 x g, 4 °C, durante 10 min usando la centrifugadora Beckman Coulter Avanti J-E y el rotor JA-14. Las dos etapas de centrifugación se realizaron en 72 h después de la extracción de la sangre. Se guardó a -80 °C el plasma sin células que comprendía el ADNsc y se descongeló solo una vez antes de la amplificación del ADNsc de plasma o para la purificación de ADNsc.

Se extrajo ADN sin células (ADNsc) purificado de plasma sin células usando el minikit de ADN de sangre QIAamp (Qiagen) esencialmente según las instrucciones del fabricante. Se añadieron un mililitro de tampón AL y 100 µL de disolución de proteasa a 1 mL de plasma. La mezcla se incubó durante 15 minutos a 56 °C. Se añadió un mililitro de etanol al 100 % al digesto de plasma. La mezcla resultante se transfirió a minicolumnas QIAamp que se ensamblaron con VacValves y VacConnectors provistas en el ensamblaje de columna QIAvac 24 Plus (Qiagen). Se aplicó vacío a las muestras, y el ADNsc retenido en los filtros de columna se lavó a vacío con 750 µL de tampón AW1, seguido por un segundo lavado con 750 µL de tampón AW24. La columna se centrifugó a 14.000 rpm durante 5 minutos para retirar el tampón residual del filtro. Se eluyó el ADNsc con tampón AE por centrifugación a 14.000 rpm y se determinó la concentración usando la plataforma de cuantificación Qubit™ (Invitrogen).

Ejemplo 2

Determinación de la fracción fetal usando secuenciación masiva en paralelo: preparación de bibliotecas de secuenciación, secuenciación y análisis de los datos de secuenciación

a. Preparación de bibliotecas de secuenciación

Todas las bibliotecas de secuenciación, es decir, bibliotecas diana, primaria y enriquecidas, se prepararon a partir de aproximadamente 2 ng de ADNsc purificado que se extrajo de plasma materno. La preparación de bibliotecas se realizó usando reactivos del conjunto 1 de reactivos de ADN NEBNext™ DNA Sample Prep (pieza N° E6000L; New

England Biolabs, Ipswich, MA) para Illumina® del siguiente modo. Debido a que el ADN plasmático sin células está fragmentado en la naturaleza, no se hizo fragmentación por nebulización o sonicación adicional en las muestras de ADN de plasma. Los nucleótidos protuberantes de aproximadamente 2 ng de fragmentos de ADNsc purificado contenidos en 40 µL se convirtieron en extremos romos fosforilados según el módulo de reparación de extremos NEBNext® incubando en un tubo de microcentrifugadora de 1,5 mL el ADNsc con 5 µL 10X tampón de fosforilación, 2 µL de mezcla de disolución de desoxinucleótidos (10 mM cada dNTP), 1 µL de una dilución 1:5 de ADN polimerasa I, 1 µL de ADN polimerasa T4 y 1 µL de polinucleótido cinasa T4 proporcionado en el conjunto 1 de reactivos de ADN NEBNext™ DNA Sample Prep durante 15 minutos a 20 °C. Entonces se inactivaron térmicamente las enzimas incubando la mezcla de reacción a 75 °C durante 5 minutos. La mezcla se enfrió hasta 4 °C, y se llevó a cabo la prolongación con dA del ADN de extremos romo usando 10 µL de la mezcla maestra de prolongación con dA que contenía el fragmento de Klenow (3' a 5' exo menos) (conjunto 1 de reactivos de ADN NEBNext™ DNA Sample), e incubando durante 15 minutos a 37 °C. Posteriormente, el fragmento de Klenow se inactivo térmicamente incubando la mezcla de reacción a 75 °C durante 5 minutos. Después de la inactivación del fragmento de Klenow, se usó 1 µL de una dilución 1:5 de Genomic Adaptor Oligo Mix de Illumina (pieza N° 1000521; Illumina Inc., Hayward, CA) para ligar los adaptadores de Illumina (adaptadores Y sin índice) al ADN prolongado con dA usando 4 µL de la ADN ligasa T4 proporcionada en el conjunto 1 de reactivos de ADN NEBNext™ DNA Sample Prep, incubando la mezcla de reacción durante 15 minutos a 25 °C. La mezcla se enfrió hasta 4 °C, y los ADNsc ligados por adaptador se purificaron de adaptadores no ligados, dímeros de adaptador y otros reactivos usando perlas magnéticas proporcionadas en el sistema de purificación por PCR Agencourt AMPure XP (pieza N° A63881; Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA). Se realizaron dieciocho ciclos de PCR para enriquecer selectivamente ADNsc ligado por adaptador usando la mezcla maestra Phusion® de alta fidelidad (Finnzymes, Woburn, MA) y cebadores de PCR de Illumina complementarios a los adaptadores (pieza N° 1000537 y 1000537). El ADN ligado por adaptador se sometió a PCR (98 °C durante 30 segundos; 18 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 65 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 30 segundos; extensión final a 72 °C durante 5 minutos y mantenimiento a 4 °C) usando cebadores de PCR genómicos de Illumina (piezas N° 100537 y 100538) y la mezcla maestra de fusión de alta fidelidad Phusion proporcionada en el conjunto 1 de reactivos de ADN NEBNext™ DNA Sample Prep, según las instrucciones del fabricante. El producto amplificado se purificó usando el sistema de amplificación por PCR Agencourt AMPure XP (Agencourt Bioscience Corporation, Beverly, MA) según las instrucciones del fabricante disponible en www.beckmangenomics.com/products/AMPureXPProtocol_000387v001.pdf. El producto amplificado purificado se eluyó en 40 µL de tampón Qiagen EB, y la concentración y la distribución de tamaño de las bibliotecas amplificadas se analizó usando el kit DNA 1000 de Agilent para el bioanalizador 2100 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA).

b. Secuenciación

Se realizó la secuenciación del ADN de biblioteca usando el analizador II del genoma (Illumina Inc., San Diego, CA, EE. UU.) según protocolos habituales del fabricante. Las copias del protocolo para la secuenciación de genoma completo usando la tecnología Illumina/Solexa se pueden encontrar en BioTechniques.RTM. Protocol Guide 2007 publicada en diciembre de 2006: p 29, y en la malla multimedia mundial en [biotechniques.com/default.asp?page=protocol&subsection=article display&id=112378](http://biotechniques.com/default.asp?page=protocol&subsection=article%20display&id=112378). La biblioteca de ADN se diluyó hasta 1 nM y se desnaturalizó. Se sometió el ADN de la biblioteca (5 pM) a amplificación en clústeres según el procedimiento descrito en Cluster Station User Guide y Cluster Station Operations Guide de Illumina, disponible en la malla multimedia mundial en illumina.com/systems/genome_analyzer/cluster_station.ilmn. Se secuenció el ADN amplificado usando el analizador II del genoma de Illumina para obtener lecturas de extremo único de 36 pb. Solo se necesitan aproximadamente 30 pb de información de secuencia aleatoria para identificar que una secuencia pertenece a un cromosoma humano específico. Secuencias más largas pueden identificar de forma única dianas más particulares. En el presente caso, se obtuvo un gran número de lecturas de 36 pb, que cubren aproximadamente el 10 % del genoma.

c. Datos del análisis de secuenciación para la determinación de la fracción fetal

Tras completarse la secuenciación de la muestra, "Sequencer Control Software" de Illumina transfirió los archivos de imágenes y de identificación de bases a un servidor Unix que ejecuta la versión 1.51 del software "Genome Analyzer Pipeline" de Illumina. Se alinearon las lecturas de 36 pb con un genoma de referencia artificial, por ejemplo, un genoma de SNP, usando el programa BOWTIE. El genoma de referencia artificial se identificó como la agrupación de las secuencias polimórficas de ADN que engloban los alelos comprendidos en las secuencias polimórficas diana. Por ejemplo, el genoma de referencia artificial es un genoma de SNP que comprende SEQ ID NO: 1-56. Solo se usaron las lecturas que se cartografiaban de forma única con el genoma artificial para el análisis de la fracción fetal. Las lecturas que coincidieron perfectamente con el genoma de SNP se contaron como marcas y se filtraron. De las lecturas restantes, solo las lecturas que tenían uno o dos desapareamientos se contaron como marcas y se incluyeron en el análisis. Se contaron las marcas cartografiadas con cada uno de los alelos polimórficos, y se determinó la fracción fetal como un porcentaje de la relación del número de marcas cartografiadas con el alelo principal, es decir, el alelo materno, y el número de marcas cartografiadas con el alelo secundario, es decir, el alelo fetal.

Ejemplo 3

Selección de SNP autosómicos para la determinación de la fracción fetal

Se seleccionó un conjunto de 28 SNP autosómicos de una lista de 92 SNP (Pakstis et al., Hum Genet 127:315-324 [2010]) y de Applied Biosystems de Life Technologies™ (Carlsbad, CA) en la dirección de la malla multimedia mundial appliedbiosystems.com, y se validó para su uso en amplificación por PCR multiplexada. Los cebadores se diseñaron para hibridarse con una secuencia próxima al sitio de SNP en el ADNsc para garantizar que se incluía en la lectura de 36 pb generada a partir de la secuenciación masiva en paralelo en el analizador GII de Illumina, y para generar amplicones de longitud suficiente para someterse a amplificación por puentes durante la formación de clústeres. Así, se diseñaron cebadores para generar amplicones que tuvieron al menos 110 pb, que cuando se combinaron con los adaptadores universales (Illumina Inc., San Diego, CA) usados para la amplificación de clústeres, produjeron moléculas de ADN de al menos 200 pb. Se identificaron las secuencias de cebadores, y se sintetizaron conjuntos de cebadores, es decir, cebadores directos e inversos, por Integrated DNA Technologies (San Diego, CA), y se conservaron como una disolución 1 µM que se iba a usar para amplificar secuencias polimórficas diana como se describe en los Ejemplos 4-7. La Tabla 1 proporciona los números ID de acceso de RefSNP (rs), los cebadores usados para amplificar la secuencia de ADNsc diana y las secuencias de los amplicones que comprenden los posibles alelos de SNP que se generarían usando los cebadores. Se usaron los SNP dados en la Tabla 1 para la amplificación simultánea de 13 secuencias diana en un ensayo multiplexado. El panel proporcionado en la Tabla 1 es un panel de SNP a modo de ejemplo. Se pueden emplear más o menos SNP para enriquecer el ADN fetal y materno para ácidos nucleicos diana polimórficos. Los SNP adicionales que se pueden usar incluyen los SNP dados en la Tabla 2. Los alelos de SNP se muestran en negrita y están subrayados. Otros SNP adicionales que se pueden usar para determinar la fracción fetal según el presente método incluyen rs315791, rs3780962, rs1410059, rs279844, rs38882, rs9951171, rs214955, rs6444724, rs2503107, rs1019029, rs1413212, rs1031825, rs891700, rs1005533, rs2831700, rs354439, rs1979255, rs1454361, rs8037429 y rs1490413, que se han analizado para determinar la fracción fetal por PCR TaqMan, y se desvelan en las solicitudes provisionales de EE. UU. 61/296.358 y 61/360.837.

TABLA 1

Panel de SNP para la determinación de la fracción fetal					
ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs560681	1	CACATGCACAGCCA GCAACCCCTGTACG ACGAGTTCCACCA GTTCTTCTGAGAA CATCTGTTCAAGTTT CTCTCCATCTCTATT TACTCAGGTCACAG GACCTTGGGG (SEQ ID NO:1)	CACATGCACAGCCA GCAACCCCTGTACG AGGAGTTCCACCA GTTCTTCTGAGAA CATCTGTTCAAGTTT CTCTCCATCTCTATT TACTCAGGTCACAG GACCTTGGGG (SEQ ID NO:2)	CACATGCA CAGCCAGC AAOCC (rs560681_C1_1_F, SEQ ID NO:57)	CCCCAAGGTCC TGTGACCTGAG T (rs560681_C1_1_R ; SEQ ID NO:58)
		TGAGGAAGTGAGGC TCAGAGGGTAAGAA ACTTTGTCACAGAGC TGGTGGTGAGGGTG GAGATTTTACACTCC CTGCCCTCCCACACCA GTTTCTCCAGAGTGG AAAGACTTTTCATCTC GCACTGGCA (SEQ ID NO:3)	TGAGGAAG TCAGCGTC AGAGGGT (rs110937_C2_1_F, SEQ ID NO:59)	TGCCAGTGCGA GATCAAAAGTCT TT (rs110937_C2_1_R ; SEQ ID NO:60)	
rs1109037	2				

Panel de SNP para la determinación de la fracción fetal				
ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:
rs9866013	3	GTGCTTCAGAACCT TTGAGATCTGATCT ATTTTAAAGCTTCT TAGAAGAGAGATTG CAAAGTGGTTGTTT CTCTAGCCAGACAG GGCAGGCAAAATAGG GTTGGCTGCTGGGA TGGGA (SEQ ID NO:5)	GTGCTTCAGAACCT TTGAGATCTGATCT ATTTTAAAGCTTCT TAGAAGAGAGATTG CAAAGTGGTTGTTT CTCTAGCCAGACAG GGCAGGTAATAGG GTTGGCTGCTGGGA TGGGA (SEQ ID NO:6)	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO: TCCCATCCAC CAGCCACCC (rs9866013_C3_1_ R; SEQ ID NO:62)
		AGGTGTGCTCTCTT TTGTAGGGGAGGG GTCCCTCTCGGCTA GTAGAGGCTGGC CTGCAGTGAGCATTC AAATCCTCAAGGAA CAGGTGGGAGGT GGGACAAAGG (SEQ ID NO:7)	AGGTGTGTC TCTCTTTG TGAGGGG (rs13182883_C5_1_F; SEQ ID NO:63)	CCTTGTGTCAC CTCCCCACC (rs13182883_C5_1 R; SEQ ID NO:64)
rs13182883	5	AGGTGTGCTCTCTT TTGTAGGGGAGGG GTCCCTCTCGGCTA GTAGAGGCTGGC CTGCAGTGAGCATTC AAATCCTCAAGGAA CAGGTGGGAGGT GGGACAAAGG (SEQ ID NO:7)	AGGTGTGTC TCTCTTTG TGAGGGG (rs13182883_C5_1_F; SEQ ID NO:63)	CCTTGTGTCAC CTCCCCACC (rs13182883_C5_1 R; SEQ ID NO:64)

Panel de SNP para la determinación de la fracción fetal					
ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs13218440	6	CCTCGCCTACTGTGC TGTTCCTAACCATCA TGCCTTCCCTGAAT CCTTGAGTCCTTTT CTGCTGTGGACTGA AACTTGATCCTGAG ATTCACCTCTAGTCC CTCTGGCAGCCTCC TGGAAATCTCAGCT GGGATGG (SEQ ID NO:9)	CCTCGCCTACTGTGC TGTTCCTAACCATCA TGCCTTCCCTGAAT CCTTGAGTCCTTTT CTGCTGTGGACTGA AACTTGATCCTGAG ATTCACCTCTAGTCC CTCTGGCAGCCTCC TGGAAATCTCAGCT GGGATGG (SEQ ID NO:10)	CCTCGCCTA CTGTGCTGT TTCTAACC (rs13218440_C6_1_P; SEQ ID NO:65)	CCATCCCAAGCT GAGTATTCAG GAG (rs13218440_C6_1_R; SEQ ID NO:66)
		AATTGCAATGGTGA GAGGTTGATGGTAA AATCAAACGGAAC TGTATTTTGTCAAT CTGATGGACTGGAA CTGAGGATTTCAAT TTCTTCCAAACCA AGACACTTCTCACTG G (SEQ ID NO:11)	AATTGCAATGGTGA GAGGTTGATGGTAA AATCAAACGGAAC TGTATTTTGTCAAT CTGATGGACTGGAA CTGAGGATTTCAAT TTCTTCCAAACCA AGACACTTCTCACTG G (SEQ ID NO:12)	CCAGTGAGAAG TGTCTTGGGTT GG (SEQ ID NO:68)	
rs7041158	9				

Panel de SNP para la determinación de la fracción fetal					
ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs740598	10	GAAATGGCTTCTCAG GTAATGGAAGGTTA TCCAAATATTTTCG TAAGTATTTCAAATA GCAATGGCTCGTCTA TGTTAGTCTCAG CCACATCTCAGAAC TGCTCAAACC (SEQ ID NO:13)	GAAATGGCTTCTCAG GTAATGGAAGGTTA TCCAAATATTTTCG TAAGTATTTCAAATA GCAATGGCTCGTCTA TGTTAGTCTCAG CCACATCTCAGAAC TGCTCAAACC (SEQ ID NO:14)	GAAATGCC TTCTCAGGT AATGGAAG GT (SEQ ID NO:69)	GGTTGAGCAG TTCTGAGAATG TGGCT (SEQ ID NO:70)
		ACCCAAAACACTGG AGGGGCTCTTCTCA TTTTCGGTAGACTGC AAGTGTAGCCGTC GGGACCAAGCTTCTGT CTGGAAGTTCGTCA AATGCAGTTAAGGT CAAGTATGCCACAT AGCAGATAAGGG (SEQ ID NO:15)	ACCCAAAA CACTGGAG GGGCCT (SEQ ID NO:71)	CCCTTATCTGCT ATGTGGCATAC TTGG (SEQ ID NO:72)	
rs10773760	12				

Panel de SNP para la determinación de la fracción fetal					
ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs4530059	14	GCACCAGAAATTAA ACAACGCTGACAAT AAATATGCAGTCGA TGATGACTTCCCAGA GCTCCAGAAGCAAC TCCAGCACACAGAG AGGCGCTGATGTGC CTGTACGGTGC (SEQ ID NO:17)	GCACCAGAAATTAA ACAACGCTGACAAT AAATATGCAGTCGA TGATGACTTCCCAGA GCTCCAGAAGCAAC TCCAGCACACAGAG AGGCGCTGATGTGC CTGTACGGTGC (SEQ ID NO:18)	GCACCAGA ATTTAAACA ACGCTGAC AA (SEQ ID NO:73)	GCACCTGACAG GCACATCAGCG (SEQ ID NO:74)
		TCACCTGTATACCCCA GGTGACCCCTTGGGT CACTCTATCATAGA ACTTATCTCACAGAG TATAAGAGCTGATTT CTGTGTCTCCCTCTC ACACTAGACTTCCAC ATCCTTAGTGC (SEQ ID NO:19)	TCACCTGTAT ACCCACGG TGCACCC (SEQ ID NO:75)	GCACCTAAGGAT GTGGAAGTCTA GTGTG (SEQ ID NO:76)	
rs7205345	16	TGTACGTGGTCACCA GGGACGCTGGCG CTGGAGGGAGGCC CCGAGCCTCTGTGCC CCGTGAAGCTTCAG CTCCCTCCCGGGCT GTCTTGAGGCTCTT CTCACACT (SEQ ID NO:21)	TGTACGTGGTCACCA GGGACGCTGGCG CTGGAGGGAGGCC CCGAGCCTCTGTGCC CCGTGAAGCTTCAG CTCCCTCCCTGGCT GTCTTGAGGCTCTT CTCACACT (SEQ ID NO:22)	TGTACGTGG TCACACGG GGACG (SEQ ID NO:77)	AGTGTGAGAG AGCCTCAAGGA CAGC (SEQ ID NO:78)
rs8078417	17				

Panel de SNP para la determinación de la fracción fetal				
ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:
rs576261	19	CAGTGGACCCCTGCT GCACCTTTCCTCCCC TCCCATCAACCTCTT TTGTGCTCCGCCCTC CGGTACCACTTCT CTGTCACCAACCTG GCCTCACAACCTCT CCTTGGCCAC (SEQ ID NO:23)	CAGTGGACCCCTGCT GCACCTTTCCTCCCC TCCCATCAACCTCTT TTGTGCTCCGCCCTC CGGTACCACTTCT CTGTCACCAACCTG GCCTCACAACCTCT CCTTGGCCAC (SEQ ID NO:24)	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO: GTGGCAAGGA GAGAGTTGTGA GG (SEQ ID NO:80)
		CAGTGGACCCCTGCT TCCAGGGGCTCCTCC TCAGCACCTCCAGC ACCTTCAGGAGGC AGCAGGCAGGCAG AGAACCCCTGGAA CAATCGGCGGAAGT TGTGGGAGAGG (SEQ ID NO:25)	CAGTGGAC TAGTAGTCC AGGGGCT (SEQ ID NO:81)	CCTCTCCGACA ACTTCCGCCG (SEQ ID NO:82)
rs2567608	20	CAGTGGACCCCTGCT TCCAGGGGCTCCTCC TCAGCACCTCCAGC ACCTTCAGGAGGC AGCAGGCAGGCAG AGAACCCCTGGAA CAATCGGCGGAAGT TGTGGGAGAGG (SEQ ID NO:25)	CAGTGGAC TAGTAGTCC AGGGGCT (SEQ ID NO:81)	CCTCTCCGACA ACTTCCGCCG (SEQ ID NO:82)

TABLA 2 SNP adicionales para la determinación de fracción fetal

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs430046	16	AGGTCCTGGGGCC GCTCAATGCCAAGC TCGGAATCTTAAAT CTTAAGGAACAAC GTCATACAATGAAT GGTGTGATGTAAA GCTTGGGAGGTGAT TTCTGAGGGTAGGT GCTGGGTCTTAAATGG GAGGA (SEQ ID NO:27)	AGGTCCTGGGGGGCC TGAATGCCAAGCTGG GAACTTAAATGTTA AGGAACAAGTTCATA CAATGAATGGTGTGA TGTAAAAGCTTGGGA GGTGATTTTGAGGG TAGTGCTGGGTTTA ATGGAGGA (SEQ ID NO:28)	AGGTCCTGG GGCCGCT GAAT (rs430046 C) _1_F; SEQ ID NO:83)	TCCTCCCATTA AATCCAGGACC T (rs430046 C) _1_R ; SEQ ID NO:84)
rs995 1171	18	ACGGTTCTGTCTCTG TAGGGGAGAAAAG TCCTCGTTGTCTCT CTGGGATGCAACAT GAGAGAGCAGCAC ACTGAGGCTTATG GATTGCTGCTGCTAC AAGTGAACAGG (SEQ ID NO:29)	ACGGTTCTGTCTCTGT AGGGGAGAAAAGTCC TCCTGTCTCTCTGGG ATGCAACATGAGACA GCAGCACACTGAGGC TTTATGGGTTGCTCT GCCACAAGTGAACAG G (SEQ ID NO:30)	ACGGTTCTGTCTG TCCTGTAGG GGAGA (rs9951171 C) _1_F; SEQ ID NO:85)	CCTGTCTCACTTG TGGCAGGCA (rs9951171 C) _1_R; SEQ ID NO:86)

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs338882	5	GCGCAGTCAGATG GGCGTCTGGCGTC TGTCTCTCTCTCTC CTGCTCTCTGGCTT CATTTTCTCTCTCTT CTGCTCACCTTCT TTCGTCTGCTGTG CACACACAGTTTG GGACAAGGG CTGGA (SEQ ID NO:31)	GCGCAGTCAGATGGG CGTCTGGCGTCTGT CTCTCTCTCTCTCTC TCCTGGCTTCAITTT TCCTCTCTCTCTCTC ACCTCTCTCTCTCTC CTGTGCAACACACG TTTGGACAAGGG CTGGA (SEQ ID NO:32)	TCCAGCCCTTG TCCCAAACGTG T (rs338882 C1 I R ; SEQ ID NO:88)	
rs10776839	9	GCGGACCTGCGA AATCCAAATGCC AAACATTCCGCT CACATGATCCAGA CAGAGCGGACCCA GTGTCCAGCTTG CAGCTGAGGAGCC CGAGTTGCCGTCA GATCAGAGCCCA GTTGCCCG (SEQ ID NO:33)	GCGGACCTGCGAAA TCCCAAATGCCAAA CATTCGCGCTCACA TGATCCAGAGAGAG GGGACCCAGTGTCC CAGCTTGCAGCTGAG GAGCCCGAGTTGCC GTCAGATCAGAGCCC CAGTTGCCCG (SEQ ID NO:34)	CGGGCAACTGG GGCTCTGATC (rs10776839_C1_I R; SEQ ID NO:90)	

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs905977	17	AGCAGGCTCCCTCG ACTAGCTCACACTA CGATAAGGAAAAAT TCAAGAGCTGGTGT CCAAAGGAGGGCTG GGTGACTCGTGGCT CAGTCAGCAATCAAG ATTCTTTCTGCTTT CCCCCTCGCC (SEQ ID NO:35)	AGCAGGCTCCCTCGA CTAGCTCACACTACG ATAAGGAAAAATTCAT GAGCTGGTGTCCAAG GAGGGCTGGGJGACT CGTGGCTCAGTCAGC GTCAAGATTCTTTTC GTCCTTCCCTCTGCC (SEQ ID NO:36)	AGCAGGCT CCCTCGACT AGCT (rs905977 C 1_1_F; SEQ ID NO:91)	GGCAGAGGGGA AAGACGAAAGG A (rs905977 C1_1 R; SEQ ID NO:92)
rs127284	4	TGGCATTGGCTGTA ATATACATAGCCAT GGTTTATTATAGGC AAUUAAGAU'GAAT AGCTTCTAAACTAT AGATAAGTTTCATT ACCCAGGGAAGCT GAAGTATAGCTACT TTACCCAAAATCAT TAGAATGGTCTT (SEQ ID NO:37)	TGGCATTGGCTGTAA TATACATAGCCATGG TTTITTAATAGGCAATT TAAGATGAATAGCTT CTAAACTATAGATAA GTTTCATTACCCAG GAAAGCTCAACTATAG CTACTTTCCCAAAA TCATTAGATGGTGC TT (SEQ ID NO:38)	TGGCATTGC CTGTAAAT ACATAG (rs127284_C 4_1_F; SEQ ID NO:93)	AAGCACCATTG TAATGATTTTG G (rs127284_C4_1_ R; SEQ ID NO:94)

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs258684	7	ATGAAGCCTTCAC CAACTGCCTGTATG ACTCATCTGGGGAC TTCTGCTCTATACT CAAAGTGGCTTAGT CACTGCCAATGTAT TTCCATATGAGGGA CGATGATTACTAAG GAAATATAGAAAC AACAACTGATC (SEQ ID NO:39)	ATGAAGCCTTCACC AACTGCCTGTATGAC TCATCTGGGGACTTC TGCTCTATACTCAAA GTGGCTTAGTCACTG CCAATGTATTCCAT ATGAGGGACGGTGAT TACTAAGGAAATATA GAAACAACAACCTGAT C (SEQ ID NO:40)	ATGAAGCC TTCCACCAA CTG (rs258684 C7 _1_F; SEQ ID NO:95)	GATCAGTTGTT GTTCTATATTT CCTT (rs258684 C7 1 R ; SEQ ID NO:96)
rs1347696	8	ACAACAGATCAG GTGATTGGAGAAA AGATCACAGGCCTA GGCACCCCAAGGCTT GAAGGATGAAAAG ATGAAAAGATGGAC GGAACA AAAATAG GACCTAAATCTTT GTTCAGTTCAG (SEQ ID NO:41)	ACAACAGAAATCAGGT GATTGGAGAAAAGAT CACAGGCTAGGCAC CCAAGGCTTGAAGGA TGAAAGAATGAAAAG TGGACGGAA ~~G~~ AAAT TAGGACCTAAATCTT TGTTCAGTTCAG (SEQ ID NO:42)	ACAACAGA ATCAGGTG ATTGGA (rs1347696_C 8_4_F; SEQ ID NO:97)	CTGAACCTGAAC AAAGAAATTAAAG GTC (rs1347696_C8_4_ F; SEQ ID NO:98)

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs508485	11	TGGGGTAAATTTT CATTGTCATATGTG GAATTTAAATATAC CATCATCTACAAAG AATTCACAGAGTT AAATATCTTAAGTT AAACACTTAAATA AGTGTTCGCTGAT ATTTGATGACAGA TAACACAGAGTCTAA TTCCACACCCC (SEQ ID NO:43)	TGGGGTAAATTTT ATTGTCATATGTGA ATTTAAATATACCAT CATCTACAAAGAATT CCACAGAGCTTAAATA TCCTAAGTTAAACAC TTAAATAAAGTGT GGTGATATTTTGAT GATAGATAAACAGAG TCTAATTCACACCCC (SEQ ID NO:44)	TGGGGTAAATTTT TAGACTCTG (rs508485_C11_1_1_1_F; SEQ ID NO:99)	GGGGTGGGAAT TAGACTCTG (rs508485_C11_1_1_1_R; SEQ ID NO:100)
rs9788670	15	TGCAATTCAAAATCA GGAAGTATGACCA AAAGACAGAGATC TTTTTTGGATGATC CCTAGCCTAGCAAT GCTGGCAGCCATG CAGGTGCAATGTC ACCTTAAATTAATGT ATTGCAAACTCAGA GCTGACAAACCTCG ATGTTGC (SEQ ID NO:45)	TGCAATTCAAAATCAG GAAAGTATGACCAAAA GACAGAGATCTTTT TGGATGATCCCTAGC CTAGCAATGCCCTGGC AGCCATGCAAGGTGCA ATGTCAACCTTAAAT AATGATTGCAAAAT CAGAGCTGACAAACC TCGATGTTGC (SEQ ID NO:46)	TGCAATTCA AAATCAGGA AGTATG (rs9788670_c1 5_2_F; SEQ ID NO:101)	GCAACATCGAG GTTTGTCTAG (rs9788670_c15_2 _R; SEQ ID NO:102)

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs8137254	22	CTGTGCTCTGGGAA TAGCTGCAGAAAGTA ACTTGGGACCCAA AATAAAGCAGAAT GCTAATGTCAAAGTC CTGAGAACCAAGC CCTGGGACTCTGGT GCCATTTCGGATTTC TCCATGAGCATGGT (SEQ ID NO:47)	CTGTGCTCTGGGAAT AGCTGCAGAAAGTAAC TTGGGGACCCAAAAT AAAGCAGAAATGCTAA TGTCAAAGTCCTGAGA ACCAAGCCCTGGGAC TCTGGTGCCATTTCG GATTCCTCCATGAGCA TGGT (SEQ ID NO:48)	CTGTGCTCT GCCAATAG CTG (rs8137254_c22_2 _F; SEQ ID NO:103)	ACCATGCTCAT GGAGAAATCC (rs8137254_c22_2 _R; SEQ ID NO:104)
rs3143	19	TTTTCCAGCCAAAC TCAAGGCCAAAAA AAATTCCTTAATAT AGTTATTATGCGAG CGGACGGGAAAGCA AAGGAGCACACAGGT AGTCCACACAGAATA AGACACAAGAAAC CTCAAGCTGTG (SEQ ID NO:49)	TTTTCCAGCCAACTC AAGGCCAAAAAAAT TTCTTAATATAGTTAT TATGCGAGGGGAGGG GAAGCAAAAGGAGCA CAGGTAATCCACAGA ATAAGGACACAAAGAA ACCTCAAGCTGTG (SEQ ID NO:50)	TTTTCCAG CCAACTCA AGG (rs3143_c19_2 _F; SEQ ID NO:105)	CACAGCTTGAG GTTTCTTGTG (rs3143_c19_2_R; SEQ ID NO:106)

ID de SNP	Crom.	Amplificón: Alelo 1	Amplificón: Alelo 2	Secuencia de cebador directo, nombre y SEQ ID NO:	Secuencia de cebador inverso, nombre y SEQ ID NO:
rs2182957	13	TCTTCTCGTCCCT AAGCAACAACAT CCGCTTGCTTCTGT CTGTGAACACAG TGAATGGCTGTGCA CGCTTGATGGCCT CTGAGCCCCCTGTG CACAAACACAGAAA (SEQ ID NO:51)	TCTTCTCGTCCCTAA GCAAAACAATCCGC TTGCTTCTGTCTGTGT AACCACAGTGAATGG GTGTGCACGCTTGGT GGGCTCTGTAGCCCC TGTTGCACAAACCAG AAA (SEQ ID NO:52)	TCTTCTCGT CCCCTAAGC AA (rs2182957_c13_1 R; SEQ ID NO:108)	TTTCTGTTTGT GCAACAGG (rs2182957_c13_1 R; SEQ ID NO:108)
rs3739005	2	CACATGGGGGCAAT AAGAATCGCCAG GGAGGACGAGGGA GAACGGGTGCTTT CACATTTGCATTG AATTTTCGAGTCC CAGGATGTGTTTT GTGCTCATCGATGT (SEQ ID NO:53)	CACATGGGGGCAATTA AGAATCGCCACAGGA GGAGGAGGAGAGAAC GCGTGTCTTTTCACATT TGCAATTTGAATTTTGG AGTTCCACAGGATGTG TTTTGTGCTCATCGA TGT (SEQ ID NO:54)	CACATGGG GGCATTAA GAAT (rs3739005_c2 2_F; SEQ ID NO:109)	ACATCGATGAG CACAAAAACAC (rs3739005_c2_2 R; SEQ ID NO:110)
rs530022	1	GGGCTCTGAGGTCT GTGAAATAAAAC AAATGTCCATGCT GTCCCTTTAAGGCA TTTGGGACCTTAC ATTCAAACATTTC AGACATGTATCACA ACACGAAGGAATA ACAGTTCCAGGGAT ATCT (SEQ ID NO:55)	GGGCTCTGAGGTGTG TGAAATAAAACAAA TGTCCTAATGCTGCTT TTTATGGCATTTTGGG ACTTACATTTCAAA CATTTCAGACATGTA TCACAAACAGAGGGA ATAACAGTTCCAGGG ATATCT (SEQ ID NO:56)	GGGCTCTG AGGTGTGT GAAA (rs530022_c1_2_R 2_F; SEQ ID NO:111)	AGATATCCCTG GAACTGTATT CC (rs530022_c1_2_R ; SEQ ID NO:112)

Ejemplo 4**Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo de una biblioteca diana**

Para determinar la fracción de ADNsc fetal en una muestra materna, se amplificaron secuencias de ácidos nucleicos polimórficos diana que comprendían cada una un SNP y se usaron para preparar una biblioteca diana para secuenciación en un modo masivo en paralelo.

Se extrajo ADNsc como se describe en el Ejemplo 1. Se preparó una biblioteca de secuenciación diana del siguiente modo. Se amplificó ADNsc contenido en 5 µL de ADNsc purificado en un volumen de reacción de 50 µL que contenía 7,5 µL de una mezcla 1 µM de cebadores (Tabla 1), 10 µL de mezcla maestra NEB 5X y 27 µL de agua. Se realizó ciclado térmico con el gen Amp9700 (Applied Biosystems) usando las siguientes condiciones de ciclado: incubación a 95 °C durante 1 minuto, seguido por 20-30 ciclos a 95 °C durante 20 segundos, 68 °C durante 1 minuto, y 68 °C durante 30s, que fue seguido por una incubación final a 68 °C durante 5 minutos. Se añadió un mantenimiento final a 4 °C hasta que las muestras se retiraron para su combinación con la porción no amplificada de la muestra de ADNsc purificado. El producto amplificado se purificó usando el sistema de purificación por PCR Agencourt AMPure XP (pieza N° A63881; Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA). Se añadió un mantenimiento final a 4 °C hasta que las muestras se retiraron para preparar la biblioteca diana. El producto amplificado se analizó con un bioanalizador 2100 (Agilent Technologies, Sunnyvale, CA), y se determinó la concentración de producto amplificado. Se preparó una biblioteca de secuenciación de ácidos nucleicos diana amplificados como se describe en el Ejemplo 2, y se secuenció en un modo masivo en paralelo usando secuenciación por síntesis con terminadores reversibles con colorante y según el protocolo de Illumina (BioTechniques.RTM. Protocolo Guide 2007 publicado en diciembre de 2006: p 29, y en la malla multimedia mundial en biotechniques.com/default.asp?page=protocol&subsection=article_display&id=112378). Se realizó como se describe el análisis y el recuento de marcas cartografiadas con un genoma de referencia que consiste en 26 secuencias (13 pares que representan cada uno dos alelos) que comprende un SNP, es decir, SEQ ID NO: 1-26.

La Tabla 3 proporciona los recuentos de marcas obtenidos de la secuenciación de la biblioteca diana, y la fracción fetal calculada derivada de datos de secuenciación.

TABLA 3 Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo de una biblioteca de ácidos nucleicos polimórficos

SNP	RECuentos de MARCAS DE SNP	Fracción fetal (%)
rs10773760.1 Crom.12 longitud=128 alelo=A	236590	1,98
rs10773760.2 Crom.12 longitud=128 alelo=G	4680	
rs13182883.1 Crom.5 longitud=111 alelo=A	3607	4,99
rs13182883.2 Crom.5 longitud=111 alelo=G	72347	
rs4530059.1 Crom.14 longitud=110 alelo=A	3698	1,54
rs4530059.1 Crom.14 longitud=110 alelo=G	239801	
rs8078417.1 Crom.17 longitud=110 alelo=C	1E+06	3,66
rs8078417.2 Crom.17 longitud=110 alelo=T	50565	
Fracción fetal (media ± D.E.) = 12,4 ± 6,6		

Los resultados muestran que las secuencias polimórficas de ácidos nucleicos que comprenden cada una al menos un SNP se pueden amplificar a partir de ADNsc derivados de una muestra materna de plasma para construir una biblioteca que se puede secuenciar en un modo masivo en paralelo para determinar la fracción de ácidos nucleicos fetales en la muestra materna.

Ejemplo 5**Determinación de la fracción fetal tras el enriquecimiento de ácidos nucleicos fetales y maternos en una muestra de bibliotecas de secuenciación de ADNsc**

Para enriquecer el ADNsc fetal y materno contenido en una biblioteca de secuenciación primaria construida usando ADNsc fetal y materno purificado, se usó una porción de una muestra de ADNsc purificado para amplificar secuencias polimórficas de ácidos nucleicos diana, y para preparar una biblioteca de secuenciación de ácidos nucleicos diana

polimórficos amplificados, que se usó para enriquecer las secuencias de ácidos nucleicos fetales y maternas comprendidas en la biblioteca primaria.

El método corresponde al flujo de trabajo 3 representado en la Figura 3. Se preparó una biblioteca de secuenciación diana a partir de una porción de los ADNsc purificados como se describe en el Ejemplo 2. Se preparó una biblioteca de secuenciación primaria usando la porción restante del ADNsc purificado como se describe en el Ejemplo 2. El enriquecimiento de la biblioteca primaria para los ácidos nucleicos polimórficos amplificados comprendidos en la biblioteca diana se obtuvo diluyendo las bibliotecas de secuenciación primaria y diana con 10 nM, y combinando la biblioteca diana con la biblioteca primaria a una relación de 1:9 para proporcionar una biblioteca de secuenciación enriquecida. La secuenciación de la biblioteca enriquecida y el análisis de los datos de secuenciación se realizaron como se describe en el Ejemplo 2.

La Tabla 4 proporciona el número de marcas de secuencia que se cartografiaron con el genoma de SNP para los SNP informativos identificados a partir de la secuenciación de una biblioteca enriquecida derivada de muestras de plasma de mujeres embarazadas que llevaban cada una un feto con T21, T13, T18 y monosomía X, respectivamente. La fracción fetal se calculó del siguiente modo:

% de alelo_x de la fracción fetal = $(\sum \text{Marcas de secuencia fetal para el alelo}_x) / (\sum \text{Marcas de secuencia materna para el alelo}_x) \times 100$

La Tabla 4 también proporciona el número de las marcas de secuencia cartografiadas con el genoma de referencia humano. Las marcas cartografiadas con el genoma de referencia humano se usaron para determinar la presencia o ausencia de aneuploidía usando la misma muestra de plasma que se utilizó para determinar la fracción fetal correspondiente. El método de uso de recuentos de marcas de secuencia para determinar la aneuploidía se describe en las solicitudes provisionales de EE. UU. 61/407.017 y 61/455.849778.

TABLA 4 Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo de una biblioteca enriquecida de ácidos nucleicos polimórficos

ID de muestra (cariotipo)	SNP	RECuentos DE MARCAS DE SNP	FRACCIÓN FETAL (%)
11409 (47, XY+21)	rs13182883.1 Crom. 5 longitud=111 alelo=A	261	4,41
	rs13182883.2 Crom. 5 longitud=111 alelo=G	5918	
	rs740598.1 Crom. 10 longitud=114 alelo=A	5545	7,30
	rs740598.2 Crom. 10 longitud=114 alelo=G	405	
	rs8078417.1 Crom. 17 longitud=110 alelo=C	8189	6,74
	rs8078417.2 Crom. 17 longitud=110 alelo=T	121470	
	rs576261.1 Crom. 19 longitud=114 alelo=A	58342	7,62
	rs576261.2 Crom. 19 longitud=114 alelo=C	4443	
Fracción fetal (media ± D.E.) = 6,5 ± 1,5			
ID de muestra			
95133 (47, XX+18)	rs1109037.1 Crom. 2 longitud=126 alelo=A	12229	2,15
	rs1109037.2 Crom. 2 longitud=126 alelo=G	263	
	rs13218440.1 Crom. 6 longitud=139 alelo=A	55949	3,09
	rs13218440.2 Crom. 6 longitud=139 alelo=G	1729	
	rs7041158.1 Crom. 9 longitud=117 alelo=C	7281	4,12
	rs7041158.2 Crom. 9 longitud=117 alelo=T	300	
	rs7205345.1 Crom. 16 longitud=116 alelo=C	53999	2,14
	rs7205345.2 Crom. 16 longitud=116 alelo=G	1154	
Fracción fetal (media ± D.E.) = 2,9 ± 0,9			

ID de muestra			
51236 (46,XY+13)	rs13218440.1 Crom. 6 longitud=139 alelo=A	1119	1,65
	rs13218440.2 Crom. 6 longitud=139 alelo=G	67756	
	rs560681.1 Crom. 1 longitud=111 alelo=A	14123	5,18
	rs560681.2 Crom. 1 longitud=111 alelo=G	732	
	rs7205345.1 Crom. 16 longitud=116 alelo=C	18176	1,63
	rs7205345.2 Crom. 16 longitud=116 alelo=G	296	
	rs9866013.1 Crom. 3 longitud=121 alelo=C	117	2,33
	rs9866013.2 Crom. 3 longitud=121 alelo=T	5024	
Fracción fetal (media ± D.E.) = 2,7 ± 1,7			
54430 (45,XO)	rs1109037.1 Crom. 2 longitud=126 alelo=A	19841	1,80
	rs1109037.2 Crom. 2 longitud=126 alelo=G	357	
	rs9866013.1 Crom. 3 longitud=121 alelo=C	12931	3,81
	rs9866013.2 Crom. 3 longitud=121 alelo=T	493	
	rs7041158.1 Crom. 9 longitud=117 alelo=C	2800	4,25
	rs7041158.2 Crom. 9 longitud=117 alelo=T	119	
	rs740598.1 Crom. 10 longitud=114 alelo=A	12903	4,87
	rs740598.2 Crom. 10 longitud=114 alelo=G	628	
	rs10773760.1 Crom. 12 longitud=128 alelo=A	46324	4,65
	rs10773760.2 Crom. 12 longitud=128 alelo=G	2154	
Fracción fetal (media ± D.E.) = 3,9 ± 1,2			

Ejemplo 6

Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo: Enriquecimiento de ácidos nucleicos fetales y maternos en ácidos nucleicos polimórficos en una muestra de ADNsc purificado.

- 5 Para enriquecer el ADNsc fetal y materno contenido en una muestra de ADNsc extraída de una muestra materna de plasma, se usó una porción del ADNsc purificado para amplificar secuencias de ácidos nucleicos polimórficos diana que comprendían cada una un SNP elegido del panel de SNP dado en la Tabla 5.

El método corresponde al flujo de trabajo 2 representado en la Figura 3. Se obtuvo plasma sin células de una muestra de sangre materna, y se purificó el ADNsc de la muestra de plasma como se describe en el Ejemplo 1. Se determinó que la concentración final era 92,8 pg/ μ L. Se amplificó el ADNsc contenido en 5 μ L de ADNsc purificado en un volumen de reacción de 50 μ L que contenía 7,5 μ L de una mezcla de cebadores 1 uM (Tabla 1), 10 μ L de mezcla maestra NEB 5X y 27 μ L de agua. Se realizó el ciclado térmico con el gen Amp9700 (Applied Biosystems). Usando las siguientes condiciones de ciclado: incubación a 95 $^{\circ}$ C durante 1 minuto, seguido por 30 ciclos a 95 $^{\circ}$ C durante 20 segundos, 68 $^{\circ}$ C durante 1 minuto y 68 $^{\circ}$ C durante 30s, que fue seguido por una incubación final a 68 $^{\circ}$ C durante 5 minutos. Se añadió un mantenimiento final a 4 $^{\circ}$ C hasta que las muestras se retiraron para su combinación con la porción sin amplificar de la muestra de ADNsc purificado. El producto amplificado se purificó usando el sistema de purificación por PCR Agencourt AMPure XP (pieza N $^{\circ}$ A63881; Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA), y se cuantificó la concentración usando Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE). El producto de amplificación purificado se diluyó 1:10 en agua y se añadieron 0,9 μ L (371 pg) a 40 μ L de muestra purificada de ADNsc para obtener un enriquecimiento del 10 %. Se usó el ADNsc fetal y materno enriquecido presente en la muestra de ADNsc purificado para preparar una biblioteca de secuenciación, y se secuenció como se describe en el Ejemplo 2.

La Tabla 5 proporciona los recuentos de marcas obtenidos para cada uno de los cromosomas 21, 18, 13, X e Y, es decir, la densidad de marcas de secuencia, y los recuentos de marcas obtenidos para las secuencias polimórficas

- informativas contenidas en el genoma de referencia de SNP, es decir, la densidad de marcas de SNP. Los datos muestran que la información de secuenciación se puede obtener de la secuenciación de una única biblioteca construida a partir de una muestra de ADNsc materno purificado que se ha enriquecido para secuencias que comprenden SNP para determinar simultáneamente la presencia o ausencia de aneuploidía y la fracción fetal. La presencia o ausencia de aneuploidía se determinó usando el número de marcas cartografiadas en cromosomas como se describe en las solicitudes provisionales de EE. UU. 61/407.017 y 61/455.849. En el ejemplo dado, los datos muestran que la fracción de ADN fetal en la muestra de plasma AFR105 fue cuantificable a partir de los resultados de secuenciación de cinco SNP informativos y se determinó que era del 3,84 %. Se proporcionan densidades de marcas de secuencia para los cromosomas 21, 13, 18, X e Y.
- El ejemplo muestra que el protocolo de enriquecimiento proporciona los recuentos de marcas requeridos para determinar la aneuploidía y la fracción fetal de un único proceso de secuenciación.

TABLA 5

Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo: Enriquecimiento de ácidos nucleicos fetales y maternos en ácidos nucleicos polimórficos en una muestra de ADNsc purificado					
Aneuploidía					
	Cromosoma 21	Cromosoma 18	Cromosoma 13	Cromosoma X	Cromosoma Y
Densidad de marcas de secuencia	178763	359529	388204	572330	2219
Cariotipo	No afectado	No afectado	No afectado	No afectado	No afectado
Fracción fetal					
SNP		DENSIDAD DE MARCAS DE SNP		FRACCIÓN FETAL (%)	
rs10773760.1 Crom. 12 longitud=128 alelo=A		18903		2,81	
rs10773760.2 Crom. 12 longitud=128 alelo=G		532			
rs1109037.1 Crom. 2 longitud=126 alelo=A		347		5,43	
rs1109037.2 Crom. 2 longitud=126 alelo=G		6394			
rs2567608.1 Crom. 20 longitud=110 alelo=A		94503		1,74	
rs2567608.2 Crom. 20 longitud=110 alelo=G		1649			
rs7041158.1 Crom. 9 longitud=117 alelo=C		107		5,61	
rs7041158.2 Crom. 9 longitud=117 alelo=T		6			
rs8078417.1 Crom. 17 longitud=110 alelo=C		162668		3,61	
rs8078417.2 Crom. 17 longitud=110 alelo=T		5877			
Fracción fetal (media ± D.E.) = 3,8 ± 1,7					

Ejemplo 7

- Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo: Enriquecimiento de ácidos nucleicos fetales y maternos en ácidos nucleicos polimórficos en una muestra de plasma.**

Para enriquecer el ADNsc fetal y materno contenido en una muestra original de plasma derivada de una mujer embarazada, se usó una porción de la muestra original de plasma para amplificar secuencias polimórficas de ácidos nucleicos diana comprendían cada una un SNP elegido del panel de SNP dado en la Tabla 1, y se combinó una porción del producto amplificado con la muestra original de plasma restante.

El método corresponde al flujo de trabajo 2 representado en la Figura 3. Se amplificó el ADNsc contenido en 15 μ L de plasma sin células en un volumen de reacción de 50 μ L que contenía 9 μ L de una mezcla de cebadores 1 μ M (15 plex, Tabla 1), 1 μ L de ADN polimerasa de sangre Phusion, 25 μ L de 2X tampón de PCR de sangre Phusion que contenía

trifosfatos de desoxinucleótido (dNTP: dATP, dCTP, dGTP y dTTP). Se realizó el ciclado térmico con el gen Amp9700 (Applied Biosystems) usando las siguientes condiciones de ciclado: incubación a 95 °C durante 3 minutos, seguido por 35 ciclos a 95 °C durante 20 segundos, 55 °C durante 30 s y 70 °C durante 1 minuto, que fue seguido por una incubación final a 68 °C durante 5 minutos. Se añadió un mantenimiento final a 4 °C hasta que las muestras se retiraron para su combinación con la porción sin amplificar de plasma sin células. El producto amplificado se diluyó 1:2 con agua y se analizó usando el bionalizador. Se diluyeron 3 µL adicionales de producto amplificado con 11,85 µL de agua para obtener una concentración final de 2 ng/ µL. se combinaron 2,2 µL del producto amplificado diluido con la muestra de plasma restante. El ADNsc fetal y materno enriquecido presente en la muestra de plasma se purificó como se describe en el Ejemplo 1, y se usó para la preparación de una biblioteca de secuenciación. Se realizó la secuenciación y el análisis de los datos de secuenciación como se describe en el Ejemplo 2.

Los resultados se dan en la Tabla 6. En el ejemplo dado, los datos muestran que la fracción de ADN fetal en la muestra de plasma SAC2517 fue cuantificable a partir de los resultados de secuenciación de un SNP informativo y se determinó que era del 9,5%. En el ejemplo dado, se mostró por cariotipado que la muestra SAC2517 no estaba afectada por aneuploidías de los cromosomas 21, 13, 18, X e Y. Se proporcionan las densidades de marcas de secuencia para los cromosomas 21, 13, 18, X e Y. Se determinó la presencia o ausencia de aneuploidía usando recuentos de marcas como se describe en las solicitudes provisionales de EE. UU. 61/407.017 y 61/455.849.

El ejemplo demuestra que se puede usar el enriquecimiento de la mezcla de ADNsc fetal y materno presente en una muestra de plasma para las secuencias de ácidos nucleicos que comprenden al menos un SNP informativo para proporcionar la secuencia requerida y recuentos de marcas de SNP para determinar la aneuploidía y fracción fetal de un único proceso de secuenciación en la secuenciación masiva en paralelo de una biblioteca preparada a partir del ADNsc contenido en una muestra de plasma que está enriquecida en ácidos nucleicos polimórficos.

TABLA 6

Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo: Enriquecimiento de ácidos nucleicos fetales y maternos en ácidos nucleicos polimórficos que comprenden un SNP en una muestra de plasma					
Aneuploidía					
	Cromosoma 21	Cromosoma 18	Cromosoma 13	Cromosoma X	Cromosoma Y
Densidad de marcas de secuencia	183851	400582	470526	714055	2449
Cariotipo	Sin afectar	Sin afectar	Sin afectar	Sin afectar	Sin afectar
Fracción fetal					
SNP		RECuentos DE MARCAS	FRACCIÓN FETAL (%)		
rs10773760.1 Crom. 12 longitud=128 alelo=A		8536	9,5		
rs10773760.2 Crom. 12 longitud=128 alelo=G		89924			

Ejemplo 8**Determinación de la fracción fetal en la secuenciación masiva en paralelo de muestras que comprenden secuencias polimórficas amplificadas: SNP en tándem**

Para determinar la fracción de ADNsc fetal en una muestra materna, se amplifican secuencias polimórficas de ácidos nucleicos diana que comprenden cada una un par de SNP en tándem y se usan para preparar una biblioteca diana para la secuenciación en un modo masivo en paralelo. Se pueden seleccionar pares de SNP en tándem de rs7277033-rs2110153; rs2822654-rs1882882; rs368657-rs376635; rs2822731-rs2822732; rs1475881-rs275487; rs1735976-rs2827016; rs447340-rs2824097; rs418989- rs13047336; rs987980- rs987981; rs4143392- rs4143391; rs1691324-rs13050434; rs11909758-rs9980111; rs2826842-rs232414; rs1980969-rs1980970; rs9978999-rs9979175; rs1034346-rs12481852; rs7509629-rs2828358; rs4817013-rs7277036; rs9981121-rs2829696; rs455921-rs2898102; rs2898102-rs458848; rs961301-rs2830208; rs2174536-rs458076; rs11088023-rs11088024; rs1011734-rs1011733; rs2831244-rs9789838; rs8132769-rs2831440; rs8134080-rs2831524; rs4817219-rs4817220; rs2250911-rs2250997; rs2831899-rs2831900; rs2831902-rs2831903; rs11088086-rs2251447; rs2832040-rs11088088; rs2832141-rs2246777; rs2832959 -rs9980934; rs2833734-rs2833735; rs933121-rs933122; rs2834140-rs12626953; rs2834485-rs3453; rs9974986-rs2834703; rs2776266-rs2835001; rs1984014-rs1984015; rs7281674-rs2835316; rs13047304-

rs13047322; rs2835545-rs4816551; rs2835735-rs2835736; rs13047608-rs2835826; rs2836550-rs2212596; rs2836660-rs2836661; rs465612-rs8131220; rs9980072-rs8130031; rs418359-rs2836926; rs7278447-rs7278858; rs385787-rs367001; rs367001-rs386095; rs2837296-rs2837297; y rs2837381-rs4816672. Los cebadores usados para amplificar las secuencias diana que comprenden los SNP en tándem se diseñan para englobar ambos sitios de SNP.

5 Por ejemplo, el cebador directo se diseña para englobar el primer SNP y el cebador inverso se diseña para englobar el segundo del par de SNP en tándem, es decir, cada uno de los sitios de SNP en el par del tándem está englobado dentro de los 36 pb generados por el método de secuenciación. Se puede usar secuenciación de extremos emparejados para identificar todas las secuencias que engloban los sitios de SNP en tándem. Los conjuntos de cebadores a modo de ejemplo que se usan para amplificar los SNP en tándem desvelados en el presente documento

10 son rs7277033-rs2110153_F: TCCTGGAAACAAAAGTATT (SEQ ID NO:197) y rs7277033-rs2110153_R: AACCTTACAACAAAGCTAGAA (SEQ ID NO:198), set rs2822654-rs1882882_F: ACTAAGCCTTGGGGATCCAG (SEQ ID NO:199) y rs2822654-rs1882882_R: TGCTGTGGAAATACTAAAAGG (SEQ ID NO:200), set rs368657-rs376635_F:CTCCAGAGGTAATCCTGTGA (SEQ ID NO:201) y rs368657-rs376635_R:TGGTGTGAGATGGTATCTAGG (SEQ ID NO:202), rs2822731-rs2822732_F:GTATAATCCATGAATCTTGT (SEQ ID NO:203) y rs2822731-rs2822732_R:TTCAAATTGTATATAAGAGAGT (SEQ ID NO:204), rs1475881-rs7275487_F:GCAGGAAAGTTATTTTAAAT (SEQ ID NO:205) y rs1475881-rs7275487_R:TGCTTGAGAAAGCTAACACTT (SEQ ID NO:206), rs1735976-rs2827016_F:CAGTGTGGAAATTGTCTG (SEQ ID NO:207) y rs1735976-rs2827016_R:GGCACTGGGAGATTATTGTA (SEQ ID NO:208), rs447349-rs2824097_F:TCCTGTTGTTAAGTACACAT (SEQ ID NO:209) y rs447349-rs2824097_R:GGGCCGTAATTACTTTTG (SEQ ID NO:210), rs418989-rs13047336_F:ACTCAGTAGGCACCTTTGTGTC (SEQ ID NO:211) y rs418989-rs13047336_R:TCTTCCACCACCAATC (SEQ ID NO:212), rs987980-rs987981_F:TGGCTTTTCAAAGGTAAAA (SEQ ID NO:213) y rs987980-rs987981_R:GCAACGTTAACATCTGAATTT (SEQ ID NO:214), rs4143392-rs4143391_F:rs4143392-rs4143391 (SEQ ID NO:215) y rs4143392-rs4143391_R:ATTTTATATGTCATGATCTAAG (SEQ ID NO:216), rs1691324-rs13050434_F:AGAGATTACAGGTGTGAGC (SEQ ID NO:217) y rs1691324-rs13050434_R:ATGATCCTCAACTGCCTCT (SEQ ID NO:218), rs11909758-rs9980111_F:TGAAACTCAAAAGAGAAAAAG (SEQ ID NO:219) y rs11909758-rs9980111_R:ACAGATTCTACTTAAAT (SEQ ID NO:220), rs2826842-rs232414_F:TGAAACTCAAAAGAGAAAAAG (SEQ ID NO:221) y rs2826842-rs232414_R:ACAGATTCTACTTAAAT (SEQ ID NO:222), rs2826842-rs232414_F:GCAAAGGGGTACTCTATGTA (SEQ ID NO:223) y rs2826842-rs232414_R:TATCGGGTCATCTTGTAAA (SEQ ID NO:224), rs1980969-rs1980970_F:TCTAACAAAGCTCTGTCCAAAA (SEQ ID NO:225) y rs1980969-rs1980970_R:CCCACTGAATAACTGGAACA (SEQ ID NO:226), rs9978999-rs9979175_F:GCAAGCAAGCTCTCTACCTTC (SEQ ID NO:227) y rs9978999-rs9979175_R:TGTTCTTCCAAATTCACATGC (SEQ ID NO:228), rs1034346-rs12481852_F:ATTTCACTATTCCTTCATTTT (SEQ ID NO:229) y rs1034346-rs12481852_R:TAATTGTTGCACACTAAATTAC (SEQ ID NO:230), rs4817013-rs7277036_F:AAAAAGCCACAGAAATCAGTC (SEQ ID NO:231) y rs4817013-rs7277036_R:TTCTTATATCTCACTGGGCATT (SEQ ID NO:232), rs9981121-rs2829696_F:GGATGGTAGAAGAGAAGAAAGG (SEQ ID NO:233) y rs9981121-rs2829696_R:GGATGGTAGAAGAGAAGAAAGG (SEQ ID NO:234), rs455921-rs2898102_F:TGCAAAGATGCAGAACCAAC (SEQ ID NO:235) y rs455921-rs2898102_R:TTTTGTTCTTGTCTGGCTGA (SEQ ID NO:236), rs2898102-rs458848_F:TGCAAAGATGCAGAACCAAC (SEQ ID NO:237) y rs2898102-rs458848_R:GCCTCCAGCTCTATCCAAGTT (SEQ ID NO:238), rs961301-rs2830208_F:CCTTAATATCTTCCCATGTCCA (SEQ ID NO:239) y rs961301-rs2830208_R:ATTGTTAGTGCTCTTCTGCTT (SEQ ID NO:240), rs2174536-rs458076_F:GAGAAGTGCAGTCAGCAGCT (SEQ ID NO:241) y rs2174536-rs458076_R:TTTCTAAATTTCCATTGAACAG (SEQ ID NO:242), rs11088023-rs11088024_F:GAAATTGGCAATCTGATTCT (SEQ ID NO:243) y rs11088023-rs11088024_R:CACTTGTCTTTATTGATGT (SEQ ID NO:244), rs1011734-rs1011733_F:CTATGTTGATAAAACATTGAAA (SEQ ID NO:245) y rs1011734-rs1011733_R:GCCTGTCTGGAATATAGTTT (SEQ ID NO:246), rs2831244-rs9789838_F:CAGGGCATATAATCTAAGCTGT (SEQ ID NO:247) y rs2831244-rs9789838_R:CAATGACTCTGAGTTGAGCAC (SEQ ID NO:248), rs8132769-rs2831440_F:ACTCTCTCCCTCCCCTCT (SEQ ID NO:249) y rs8132769-rs2831440_R:TATGGCCCCAAACTATTCT (SEQ ID NO:250), rs8134080-rs2831524_F:ACAAGTACTGGGCAGATTGA (SEQ ID NO:251) y rs8134080-rs2831524_R:GCCAGGTTTAGCTTTCAAGT (SEQ ID NO:252), rs4817219-rs4817220_F:TTTATATCAGGAGAAACTG (SEQ ID NO:253) y rs4817219-rs4817220_R:CCAGAATTTTGAGGTTTAAT (SEQ ID NO:254), rs2250911-rs2250997_F:TGTCATTCCTCCTTTATCTCCA (SEQ ID NO:255) y rs2250911-rs2250997_R:TTCTTTTGCCTCTCCCAAAG (SEQ ID NO:256), rs2831899-rs2831900_F:ACCCTGGCACAGTGTTGACT (SEQ ID NO:257) y rs2831899-rs2831900_R:TGGGCCCTGAGTTGAGAAGAT (SEQ ID NO:258), rs2831902-rs2831903_F:AATTTGTAAGTATGTGCAACG (SEQ ID NO:259) y rs2831902-rs2831903_R:TTTTTCCCATTTCACACTCT (SEQ ID NO:260), rs11088086-rs2251447_F:AAAAGATGAGACAGGCAGGT (SEQ ID NO:261) y rs11088086-rs2251447_R:ACCCCTGTGAATCTCAAAAT (SEQ ID NO:262), rs2832040-rs11088088_F:GCACTTGCTTCTATTGTTGT (SEQ ID NO:263) y rs2832040-rs11088088_R:CCCTTCCTCTCTTCCATTCT (SEQ ID NO:264), rs2832141-rs2246777_F:AGCACTGCAGGTA (SEQ ID NO:265) y rs2832141-rs2246777_R:ACAGATACCAAAGAACTGCAA (SEQ ID NO:266), rs2832959-rs9980934_F:TGGACACCTTCAACTTAGA (SEQ ID NO:267) y rs2832959-rs9980934_R:GAACAGTAATGTTGAACTTTTT (SEQ ID NO:268), rs2833734-rs2833735_F:TCTTGCAAAAAGCTTAGCACA (SEQ ID NO:269) y rs2833734-rs2833735_R:AAAAAGATCTCAAAGGGTCCA (SEQ ID NO:270), rs933121-rs933122_F:GCTTTTGCTGAACATCAAGT (SEQ ID NO:271) y rs933121-rs933122_R:CCTTCCAGCAGCATAGTCT (SEQ ID NO:272), rs2834140-rs12626953_F:AAATCCAGGATGTGAGT (SEQ ID NO:273) y rs2834140-rs12626953_R:ATGATGAGGTCAGTGGTGT (SEQ ID NO:274), rs2834485-rs3453_F:CATCACAGATCATAGTAAATGG (SEQ ID

NO:275) y rs2834485-rs3453_R: AATTATTATTTTGCAGGCAAT (SEQ ID NO:276), rs9974986-rs2834703_F: CATGAGGCAAACACCTTTCC (SEQ ID NO:277) y rs9974986-rs2834703_R: GCTGGACTCAGGATAAAGAACA (SEQ ID NO:278), rs2776266-rs2835001_F: TGGAAGCCTGAGCTGACTAA (SEQ ID NO:279) y rs2776266-rs2835001_R: CCTTCTTTTCCCCAGAATC (SEQ ID NO:280), rs1984014-rs1984015_F: TAGGAGAACAGAAGATCAGAG (SEQ ID NO:281) y rs1984014-rs1984015_R: AAAGACTATTGCTAAATGCTTG (SEQ ID NO:282), rs7281674-rs2835316_F: TAAGCGTAGGGCTGTGTGTG (SEQ ID NO:283) y rs7281674-rs2835316_R: GGACGGATAGACTCCAGAAGG (SEQ ID NO:284), rs13047304-rs13047322_F: GAATGACCTTGGCACTTTTATCA (SEQ ID NO:285) y rs13047304-rs13047322_R: AAGGATAGAGATATACAGATGAATGGA (SEQ ID NO:286), rs2835735-rs2835736_F: CATGCACCGCGCAAATAC (SEQ ID NO:287) y rs2835735-rs2835736_R: ATGCCTCACCCACAAACAC (SEQ ID NO:288), rs13047608-rs2835826_F: TCCAAGCCCTTCTCACTCAC (SEQ ID NO:289) y rs13047608-rs2835826_R: CTGGGACGGTGACATTTTCT (SEQ ID NO:290), rs2836550-rs2212596_F: CCCAGGAAGAGTGGAAGATT (SEQ ID NO:291) y rs2836550-rs2212596_R: TTAGCTTGCATGTACCTGTGT (SEQ ID NO:292), rs2836660-rs2836661_F: AGCTAGATGGGTGAATTTT (SEQ ID NO:293) y_R: TGGCTGAGGGGAGATT (SEQ ID NO:294), rs465612-rs8131220_F: ATCAAGCTAATTAATGTTATCT (SEQ ID NO:295) y rs465612-rs8131220_R: AATGAATAAGGTCTCAGAG (SEQ ID NO:296), rs9980072-rs8130031_F: TTTAATCTGATCATTGCCCTA (SEQ ID NO:297) y rs9980072-rs8130031_R: AGCTGTGGGTGACCTTGA (SEQ ID NO:298), rs418359-rs2836926_F: TGTCCCACCATTTGTGTATTA (SEQ ID NO:299) y rs418359-rs2836926_R: TCAGACTTGAAGTCCAGGAT (SEQ ID NO:300), rs7278447-rs7278858_F: GCTTCAGGGGTGTTAGTTTT (SEQ ID NO:301) y rs7278447-rs7278858_R: CTTTGTGAAAAGTCGTCCAG (SEQ ID NO:302), rs385787-rs367001_F: CCATCATGGAAAGCATGG (SEQ ID NO:303) y rs385787-rs367001_R: TCATCTCCATGACTGACTA (SEQ ID NO:304), rs367001-rs386095_F: GAGATGACGGAGTAGCTCAT (SEQ ID NO:305) y rs367001-rs386095_R: CCCAGCTGCACTGTCTAC (SEQ ID NO:306), rs2837296-rs2837297_F: TCTTGTTCGAATCACAGGAC (SEQ ID NO:307) y rs2837296-rs2837297_R: ATGCTGTAGCTGAAGCTCT (SEQ ID NO:308), y rs2837381-rs4816672_F: TGAAAGCTCCTAAAGCAGAG (SEQ ID NO:309) y rs2837381-rs4816672_R: TTGAAGAGATGTGCTATCAT (SEQ ID NO:310). Se pueden incluir secuencias de polinucleótidos, por ejemplo las secuencias de abrazadera de GC, para garantizar la hibridación específica de cebadores ricos en AT (Ghanta et al., PLOS ONE 5(10): doi10.1371/journal.pone.0013184 [2010], disponibles en la malla multimedia mundial en plosone.org). Un ejemplo de una secuencia de abrazadera de GC que puede incluir 5' del cebador directo o 3' del cebador inverso es

GCCGCCTGCAGCCGCGCCCCCGTGCCCCCGCCCCGCGCGCCGGCGGCC (SEQ ID NO:311). Las secuencias polimórficas se pueden usar solas o en combinación con ADNsc sin amplificar para determinar o la fracción fetal o la presencia o ausencia de aneuploidía y la fracción fetal en una muestra materna como se describe para las secuencias polimórficas de SNP. La preparación de muestras y el enriquecimiento de la biblioteca de secuenciación de ADNsc, una muestra de ADNsc purificado y una muestra de plasma se realizan según el método descrito en los Ejemplos 5, 6 y 7, respectivamente. Todas las bibliotecas de secuenciación se preparan como se describe en el Ejemplo 2a, y la secuenciación se realiza como se describe en el Ejemplo 2b. El análisis de los datos de secuenciación para la determinación de aneuploidía fetal se realiza como se describe en el Ejemplo 5. Concomitante al análisis para determinar la aneuploidía, se analizan los datos de secuenciación para determinar la fracción fetal del siguiente modo. Después de la transferencia de los archivos de imágenes y de identificación de bases al servidor Unix que ejecuta la versión 1.51 del software "Genoma Analyser Pipeline" de Illumina como se describe en el Ejemplo 3a, las lecturas de 36 pb se alinean con un 'genoma de SNP en tándem' usando el programa BOWTIE. El genoma de SNP en tándem se identifica como la agrupación de las secuencias de ADN que engloban los alelos de los 58 pares de SNP en tándem desvelados anteriormente. Solo las lecturas que se cartografiaban de forma única con el genoma de SNP en tándem se usan para el análisis de la fracción fetal. Las lecturas que se emparejan perfectamente con el genoma de SNP en tándem se cuentan como marcas y se filtran. De las lecturas restantes, solo las lecturas que tienen uno o dos desapareamientos se cuentan como marcas y se incluyen en el análisis. Se cuentan las marcas cartografiadas con cada uno de los alelos de SNP en tándem y se determina la fracción fetal esencialmente como se describe en el Ejemplo 6 anterior, pero teniendo en cuenta las marcas cartografiadas con los dos alelos de SNP en tándem x e y presentes en cada una de las secuencias polimórficas de ácidos nucleicos diana amplificadas que se amplifican para enriquecer las muestras, es decir,

% de alelo_{x+y} de la fracción fetal = ((Σ Marcas de secuencia fetal para el alelo_{x+y}) / (Σ Marcas de secuencia materna para el alelo_{x+y})) x 100

Solo se usan SNP en tándem informativos para determinar la fracción fetal.

Opcionalmente, se calcula la fracción de ácidos nucleicos fetales en la mezcla de ácidos nucleicos fetales y maternos para cada uno del alelo informativo (alelo_{x+y}) del siguiente modo:

% de alelo_{x+y} de la fracción fetal = ((2 x Σ Marcas de secuencia fetal para el alelo_{x+y}) / (Σ Marcas de secuencia materna para el alelo_{x+y})) x 100,

para compensar la presencia de 2 conjuntos de alelos fetales en tándem, estando uno enmascarado por el fondo materno.

El porcentaje de fracción fetal se calcula para al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos

15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20 o más conjuntos informativos de alelos en tándem. En una realización, la fracción fetal es la fracción fetal promedio determinada para al menos 3 conjuntos informativos de alelos en tándem.

Ejemplo 9

5 Determinación de la fracción fetal en secuenciación masiva en paralelo de muestras que comprenden secuencias polimórficas amplificadas: STR

Para determinar la fracción de ADNsc fetal en una muestra materna, se amplifican secuencias de ácidos nucleicos polimórficos diana que comprenden cada una una STR y se usan para preparar una biblioteca diana para la secuenciación en un modo masivamente paralelo.

- 10 Se obtienen muestras de sangre periférica de sujetos embarazados, y se purifica el ADNsc de la fracción de plasma como se describe en los Ejemplos 1 y 2. Las STR que se amplifican se eligen de las STR codis y no codis desveladas en la Tabla 7, y la amplificación de las secuencias de STR polimórficas se obtiene usando los conjuntos correspondientes de cebadores proporcionados. Por ejemplo, las STR enumeradas en la Tabla 7 se amplifican usando los cebadores correspondientes (SEQ ID NO: 113-197), y el producto amplificado se usa para generar una biblioteca de secuenciación diana. La biblioteca de secuenciación diana de STR se prepara como se describe para la preparación de la biblioteca diana de SNP como se describe en el Ejemplo 8. Las STR CSF1PO, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338D7S820 y FGA se han analizado previamente para determinar la fracción fetal, y se desvelan en las solicitudes provisionales de EE. UU. 61/296.358 y 61/360.837.

TABLA 7 MiniSTRs CODIS y no CODIS

Locus de STR (nombre el marcador)	Localización del cromosoma	Intervalo de tamaño (pb)	Acceso de GenBank	Secuencias de cebadores (directos /inversos)
Loci Codis de miniSTR*				
CSF1PO	5q33,1	89-129	X14720	ACAGTAACTGCCTTCATAGATAG(CSF1PO_F; SEQ ID NO:113) GTGTCAGACCCTGTTCTAAGTA(CSF1PO_R; SEQ ID NO:114)
FGA	4q31,3	125-281	M64982	AAATAAAATTAGGCATATTTACAAGC(FGA_F; SEQ ID NO:115) GCTGAGTGATTTGTCTGTAATTG(FGA_R; SEQ ID NO:116)
TH01	11p15,5	51-98	D00269	CCTGTTCTCCTTATTTCCC(TH01_F; SEQ ID NO:117) GGGAACACAGACTCCATGGTG(TH01_R; SEQ ID NO:118)
TPOX	2p25,3	65-101	M68651	CTTAGGGAACCCTCACTGAATG(TPOX_F; SEQ ID NO:119) GTCCTTGTCAGCGTTTATTTGC(TPOX_R; SEQ ID NO:120)
vWA	12p13,31	88-148	M25858	AATAATCAGTATGTGACTTGATTGA(vWA_F; SEQ ID NO:121) ATAGGATGGATGGATAGATGGA(vWA_R; SEQ ID NO:122)
D3S1358	3p21,31	72-120	NT_005997	CAGAGCAAGACCCTGTCTCAT(D3S1358_F; SEQ ID NO:123) TCAACAGAGGCTTGCATGTAT(D3S1358_R; SEQ ID NO:124)

Locus de STR (nombre el marcador)	Localización del cromosoma	Intervalo de tamaño (pb)	Acceso de GenBank	Secuencias de cebadores (directos /inversos)
D5S818	5q23,2	81-117	AC008512	GGGTGATTTTCCTCTTTGGT(D5S818_F; SEQ ID NO:125) AACATTTGTATCTTTATCTGTATCCTTAT(D5S818_R; SEQ ID NO:126)
D7S820	7q21,11	136-176	AC004848	GAACACTTGTTCATAGTTTAGAACGAAC(D7S820_F; SEQ ID NO: 127) TCATTGACAGAATTGCACCA(D7S820_R; SEQ ID NO: 128)
D8S1179	8q24,13	86-134	AF216671	TTTGTATTTTCATGTGTACATTCGTATC(D7S820_F; SEQ ID NO: 129) ACCTATCCTGTAGATTATTTTCACTGTG(D7S820_R; SEQ ID NO: 130)
D13S317	13q31,1	88-132	AL353628	TCTGACCCATCTAACGCCTA(D13S317_F; SEQ ID NO: 131) CAGACAGAAAGATAGATAGATGATTGA(D13S317_R; SEQ ID NO: 132)
D16S539	16q24,1	81-121	AC024591	ATACAGACAGACAGACAGGTG(D16S539_F; SEQ ID NO: 133) GCATGTATCTATCATCCATCTCT(D16S539_R; SEQ ID NO: 134)
D18S51	18q21,33	113-193	AP001534	TGAGTGACAAATTGAGACCTT(D18S51_F; SEQ ID NO: 135) GTCTTACAATAACAGTTGCTACTATT(D18S51_R; SEQ ID NO: 136)
D21S11	21q21,1	153-221	AP000433	ATCCCCCAAGTGAATTGC(D21S11_F; SEQ ID NO:137) GGTAGATAGACTGGATAGATAGACGA(D21S11_R; SEQ ID NO:138)
D2S1338	2q35	90-142	AC01036	TGGAAACAGAAATGGCTTGG(D2S1338_F; SEQ ID NO:139) GATTGCAGGAGGGAAGGAAG(D2S1338_R; SEQ ID NO:140)
Penta D	21q22,3	94-167	AP001752	GAGCAAGACACCATCTCAAGAA(Penta D_F; SEQ ID NO:141) GAAATTTTACATTTATGTTTATGATTCTCT(Penta D_R; SEQ ID NO:142)
Penta E	15q26,2	80-175	AC027004	GGCGACTGAGCAAGACTC(Penta E_F; SEQ ID NO:143) GGTTATTAATTGAGAAAACCTTACA(Penta E_R; SEQ ID NO:144)

Loci no Codis de miniSTR*

Locus de STR (nombre el marcador)	Localización del cromosoma	Intervalo de tamaño (pb)	Acceso de GenBank	Secuencias de cebadores (directos /inversos)
D22S1045	22q12,3	82-115	AL022314 (17)	ATTTTCCCCGATGATAGTAGTCT(D22S1045_F; SEQ ID NO: 145) GCGAATGTATGATTGGCAATATTTT(D22S1045_R; SEQ ID NO: 146)
D20S1082	20q13,2	73 - 101	AL158015	ACATGTATCCCAGAACTTAAAGTAAAC(D20S1082_F; SEQ ID NO:147) GCAGAAGGGAAAATTGAAGCTG(D20S1082_R; SEQ ID NO: 148)
D20S482	20p13	85 - 126	AL121781 (14)	CAGAGACACCGAACCAATAAGA(D20S482_F; SEQ ID NO:149) GCCACATGAATCAATTCCTATAATAAA(D20S482_R; SEQ ID NO: 150)
D18S853	18p11,31	82 - 104	AP005130 (11)	GCACATGTACCCTAAAACTTAAAT(D18S853_F; SEQ ID NO:151) GTCAACCAAACTCAACAAGTAGTAA(D18S853_R; SEQ ID NO:152)
D17S1301	17q25,1	114 - 139	AC016888 (12)	AAGATGAAATTGCCATGTAAAAATA(D17S1301_F; SEQ ID NO:153) GTGTGTATAACAAAATTCCTATGATGG(D17S1301_R; SEQ ID NO:154)
D17S974	17p13,1	114 - 139	AC034303 (10)	GCACCCAAAACCTGAATGTCATA(D17S974_F; SEQ ID NO:155) GGTGAGAGTGAGACCCTGTC(D17S974_R; SEQ ID NO: 156)
D14S1434	14q32,13	70 - 98	AL121612 (13)	TGTAATAACTCTACGACTGTCTGTCTG(D14S1434_F; SEQ ID NO:157) GAATAGGAGGTGGATGGATGG(D14S1434_R; SEQ ID NO:158)
D12ATA63	12q23,3	76 - 106	AC009771 (13)	GAGCGAGACCCTGTCTCAAG(D12ATA63_F; SEQ ID NO:159) GGAAAAGACATAGGATAGCAATTT(D12ATA63_R; SEQ ID NO:160)
D11S4463	11q25	88 - 116	AP002806 (14)	TCTGGATTGATCTGTCTGTCC(D11S4463_F; SEQ ID NO: 161) GAATTAAATACCATCTGAGCACTGAA(D11S4463_R; SEQ ID NO:162)
D10S1435	10p15,3	82 - 139	AL354747 (11)	TGTTATAATGCATTGAGTTTTATTCTG(D10S1435_F; SEQ ID NO:163) GCCTGTCTCAAAAATAAAGAGATAGACA(D10S1435_R; SEQ ID NO:164)

Locus de STR (nombre el marcador)	Localización del cromosoma	Intervalo de tamaño (pb)	Acceso de GenBank	Secuencias de cebadores (directos /inversos)
D10S1248	10q26,3	79 - 123	AL391869 (13)	TTAATGAATTGAACAAATGAGTGAG(D10S1248_ F; SEQ ID NO:165) GCAACTCTGGTTGTATTGTCTTCAT(D10S1248_R; SEQ ID NO:166)
D9S2157	9q34,2	71 - 107	AL162417 (10)	CAAAGCGAGACTCTGTCTCAA(D9S2157_ F; SEQ ID NO:167) GAAAATGCTATCCTCTTTGGTATAAAT(D9S2157 R; SEQ ID NO:168)
D9S1122	9q21,2	93 - 125	AL161789 (12)	GGGTATTTCAAGATAACTGTAGATAGG(D9S1122 F; SEQ ID NO:168) GCTTCTGAAAGCTTCTAGTTTACC(D9S1122_R; SEQ ID NO:170)
D8S1115	8p11,21	63 - 96	AC090739 (9)	TCCACATCCTCACCAACAC(D8S1115_F; SEQ ID NO:171) GCCTAGGAAGGCTACTGTCAA(D8S1115-R; SEQ ID NO: 172)
D6S1017	6p21,1	81 - 110	AL035588 (10)	CCACCCGTCCATTAGGC(D6S1017_ F; SEQ ID NO:173) GTGAAAAAGTAGATATAATGGTTGGTG(D6S1017 R; SEQ ID NO:174)
D6S474	6q21	107 - 136	AL357514 (17)	GGTTTTCCAAGAGATAGACCAATTA(D6S474_F; SEQ ID NO:175) GTCCTCTCATAAATCCCTACTCATATC(D6S474 R; SEQ ID NO:176)
D5S2500	5q11,2	85 - 126	AC008791 (17)	CTGTTGGTACATAATAGGTAGGTAGGT(D5S2500 F; SEQ ID NO:177) GTCGTGGGCCCATATAA TC(D5S2500_ _R; SEQ ID NO:178)
D4S2408	4p15,1	85 - 109	AC110763 (9)	AAGGTACATAACAGTTCAATAGAAAGC(D4S2408 F; SEQ ID NO:179) GTGAAATGACTGAAAAATAGTAACCA(D4S2408 R; SEQ ID NO:180)
D4S2364	4q22,3	67 - 83	AC022317 (9)	CTAGGAGATCATGTGGGTATGATT(D4S2364U_F; SEQ ID NO:181) GCAGTGAATAAATGAACGAATGGA(D4S2364_R; SEQ ID NO: 182)
D3S4529	3p12,1	111 - 139	AC117452 (13)	CCCAAAATTACTTGAGCCAAT(D3S4529_F; SEQ ID NO:183) GAGACAAAATGAAGAAACAGACAG(D3S4529_R; SEQ ID NO:184)
D3S3053	3q26,31	84 - 108	AC069259 (9)	TCTTTGCTCTCATGAAT AGATCAGT(D3S3053_F; SEQ ID NO:185)

Locus de STR (nombre el marcador)	Localización del cromosoma	Intervalo de tamaño (pb)	Acceso de GenBank	Secuencias de cebadores (directos /inversos)
				GTTTGTGATAATGAACCCACTCAG(D3 053_R; SEQ ID NO:186) S3
D2S1776	2q24,3	127 - 161	AC009475 (11)	TGAACACAGATGTTAAGTGTGTATATG(D2S1776 F; SEQ ID NO:187) GTCTGAGGTGGACAGTTATGAAA(D2S 17 76_R; SEQ ID NO:188)
D2S441	2p14	78 - 110	AC079112 (12)	CTGTGGCTCATCTATGAAAACCTT(D2S441 _F; SEQ ID NO:189) GAAGTGGCTGTGGTGT A TGAT(D2S441_ R; SEQ ID NO:190)
D1S1677	1q23,3	81 - 117	AL513307 (15)	TTCTGTTGGTATAGAGCAGTGTTT(D 1S16 77_F; SEQ ID NO:191) GTGACAGGAAGGACGGAATG(D 1S 1677_ R; SEQ ID NO: 192)
D1S1627	1p21,1	81 - 100	AC093119 (13)	CATGAGGTTTGCAAATACTATCTTAAC(D1S1627 F; SEQ ID NO:193) GTTTTAATTTTCTCCAAATCTCCA(D 1S16 27_R; SEQ ID NO:194)
D1GATA113	1p36,23	81 - 105	Z97987 (11)	TCTTAGCCTAGATAGATACTTGCTTCC(D 1GATA113 F; SEQ ID NO:195) GTCAACCTTTGAGGCTATAGGAA(DIGA TA113 R; SEQ ID NO: 196)
*(Butler et al., J Forensic Sci 5:1054-1064; Hill et al., Póster N° 44- 17º Simposio Internacional sobre Identificación Humana - 2006)				

Se realiza la secuenciación de la biblioteca enriquecida en secuencias de STR polimórficas usando una tecnología de NGS, por ejemplo, secuenciación por síntesis. Las lecturas de secuencias de longitudes que engloban las STR, por ejemplo, miniSTRs de al menos 100 pb, para un genoma de STR de referencia que consiste en las secuencias polimórficas que se amplificaron en la muestra. Se identifican alelos de STR de informativos por diferencias en la longitud de las repeticiones, y se cuentan el número de marcas de secuencia de STR, y se usan para determinar la fracción fetal. Opcionalmente, se realiza la amplificación de las secuencias de STR polimórficas para enriquecer una muestra de plasma, una muestra de ADNsc purificado o una muestra de biblioteca de secuenciación de ADNsc, como se describe en los Ejemplos 5, 6 y 7, respectivamente.

5

Ejemplo 10**Determinación de la fracción fetal por electroforesis capilar de secuencias polimórficas que comprenden STR**

Para determinar la fracción fetal en muestras maternas que comprenden ADNsc fetal y materno, se recogieron muestras de sangre periférica de mujeres embarazadas voluntarias que portaban o fetos varones o hembra. Se obtuvieron muestras de sangre periférica y se procesaron para proporcionar ADNsc purificado como se describe en el Ejemplo 1

Se analizaron diez microlitros de muestras de ADNsc usando el kit de amplificación por PCR AmpF1STR® MiniFiler™ (Applied Biosystems, Foster City, CA) según las instrucciones del fabricante. Brevemente, se amplificó el ADNsc contenido en 10 µL en un volumen de reacción de 25 µL que contenía 5 µL de cebadores fluorescentemente marcados (conjunto de cebadores AmpF/STR® MiniFiler™), y la mezcla maestra AmF/STR® MiniFiler™, que incluye ADN polimerasa AmpliTaq Gold® y tampón asociado, sal (MgCl₂ 1,5 mM) y trifosfatos de desoxinucleótido 200 µM (dNTP: dATP, dCTP, dGTP y dTTP). Los cebadores fluorescentemente marcados son cebadores directos que se marcan con colorantes 6FAM™, VIC™, NED™ y PET™. Se realizó ciclado térmico con el gen Amp9700 (Applied Biosystems) usando las siguientes condiciones de ciclado: incubación a 95 °C durante 10 minutos, seguido por 30 ciclos a 94 °C durante 20 segundos, 59 °C durante 2 minutos y 72 °C durante 1 minuto, que fue seguido por una incubación final a 60 °C durante 45 minutos. Se añadió un mantenimiento final a 4 °C hasta que las muestras se retiraron para el análisis. El producto amplificado se preparó diluyendo 1 µL de producto amplificado en 8,7 µL de formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems) y 0,3 µL de patrón de tamaño interno GeneScan™-500 LIZ (Applied Biosystems), y se analizó con un analizador genético ABI PRISM3130xl (Applied Biosystems) usando el analizador genético HID G5 POP4 (Applied Biosystems) y una matriz capilar de 36 cm. Todo el genotipado se realizó con el software GeneMapper_ID v3.2 (Applied Biosystems) usando escaleras alélicas y cajas y paneles proporcionados por el fabricante.

Toda la medición del genotipado se realizó en el analizador genético 3130xl de Applied Biosystems usando una "ventana" de ± 0,5 nt alrededor del tamaño obtenido para cada alelo para permitir la detección y la correcta asignación de alelos. Se determinó que cualquier alelo de muestra cuyo tamaño estaba fuera de la ventana de ± 0,5 nt era OL, es decir, "fuera de la escalera". Los alelos OL son alelos de un tamaño que no está representado en la escalera alélica AnmF/STR® MiniFiler™ o un alelo que no se corresponde con una escalera alélica, pero cuyo tamaño está justamente fuera de una ventana debido al error de medición. Se estableció el umbral mínimo de la altura de pico de >50 URF basándose en los experimentos de validación realizados para evitar el tipado cuando es probable que los efectos estocásticos interfieran con la interpretación precisa de las mezclas. El cálculo de fracción fetal se basa en promediar todos los marcadores informativos. Los marcadores informativos se identifican por la presencia de picos en el electroferograma que entran dentro de los parámetros de las cajas prefijadas para las STR que se analizan.

Se realizaron los cálculos de fracción fetal usando la altura de pico promedio para los alelos principal y secundario en cada locus de STR determinado a partir de inyecciones por triplicado. Las reglas aplicadas al cálculo son:

1. Datos de alelos fuera de la escalera (OL) para alelos que no están incluidos en el cálculo; y
2. Solo se incluyen en el cálculo alturas de pico derivadas de >50 URF (unidades relativas de fluorescencia)
3. Si solo está presente una caja, el marcador se considera no informativo; y
4. Si se identifica una segunda caja, pero los picos de la primera y segunda cajas están dentro del 50-70 % de sus unidades relativas de fluorescencia (URF) en altura de pico, la fracción secundaria no se mide y se considera que el marcador no es informativo.

La fracción del alelo secundario para cualquier marcador informativo dado se calcula dividiendo la altura del pico del componente secundario entre la suma de la altura del pico para el componente principal, y se expresa como un porcentaje que se calculó primero para cada locus informativo como

$$\text{fracción fetal} = (\Sigma \text{altura de picos de alelo secundario} / \Sigma \text{altura de picos de alelo(s) principal(es)}) \times 100$$

La fracción fetal para una muestra que comprende dos o más STR informativas se calcularía como el promedio de las fracciones fetales calculadas para los dos o más marcadores informativos.

La Tabla 8 proporciona los datos obtenidos de analizar ADNsc de un sujeto embarazado con un feto varón.

TABLA 8 Fracción fetal determinada en ADNsc de un sujeto embarazado por análisis de STR

STR	Alelo 1	Alelo 2	Alelo 3	Altura del alelo 1	Altura del alelo 2	Altura del alelo 3	Fracción fetal	Fracción fetal (media/STR)
AMEL	X	Y		3599	106		2,9	
AMEL	X	Y		3602	110		3,1	
AMEL	X	Y		3652	109		3,0	3,0
CSF1PO	11	12		2870	2730			
CSF1PO	11	12		2924	2762			
CSF1PO	11	12		2953	2786			
D13S317	11	12		2621	2588			
D13S317	11	12		2680	2619			
D13S317	11	12		2717	2659			
D16S539	9	11		1056	1416			
D16S539	9	11		1038	1394			
D16S539	9	11		1072	1437			
D18S51	13	15		2026	1555			
D18S51	13	15		2006	1557			
D18S51	13	15		2050	1578			
D21S11	28	31,2		2450	61		2,5	
D21S11	28	31,2		2472	62		2,5	
D21S11	28	31,2		2508	67		2,7	2,6
D2S1338	20	23		3417	3017			
D2S1338	20	23		3407	3020			
D2S1338	20	23		3493	3055			
D7S820	9	12	13	2373	178	1123	5,1	
D7S820	9	12	13	2411	181	1140	5,1	
D7S820	9	12	13	2441	182	1156	5,1	5,1
FGA	17,2	22	25	68	1140	896	3,3	
FGA	17,2	22	25	68	1144	909	3,1	
FGA	17,2	22	25	68	1151	925	3,3	3,2
Fracción fetal = 3.5								

Los resultados muestran que el ADNsc se puede usar para determinar la presencia o ausencia de ADN fetal como se indica por la detección de un componente secundario en uno o más alelos de STR, para determinar el porcentaje de fracción fetal, y para determinar el sexo del feto como se indica por la presencia o ausencia del alelo de amelogenina.

Ejemplo 11**Preamplificación de ADNsc para determinar la fracción fetal por electroforesis capilar de secuencias polimórficas que comprenden STR**

Para mejorar la sensibilidad del ensayo de STR en la detección y la cuantificación de los alelos de STR en el contribuyente secundario de la muestra de ADNsc, el número de genomas iniciales en las muestras artificiales aumentó por una estrategia modificada de amplificación de genoma completo.

Se recogieron muestras de sangre periférica y se procesaron como se describe en el Ejemplo 2. Se extrajo ADN sin células de 1 mL de plasma sin células usando MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I – Large Volume de Roche (Roche Applied Science, IN) usando el instrumento MagNA Pure Compact, y se eluyó en 50 µL de tampón de elución. Se usaron diez microlitros del ADNsc extraído para cuantificar el ADNsc, y el resto se almacenó (véanse las instrucciones de almacenamiento WI0035 Almacenamiento de muestras clínicas). La concentración del ARNsc extraído del plasma se determinó por cuantificación basada en fluorescencia con mediciones de absorbancia de UV usando la plataforma de cuantificación Qubit™ (Invitrogen).

Se determinó que la concentración de ADNsc cuantificado en muestras de plasma preparadas usando el MagnaPure Nucleic Acid Isolation Kit I de 16 sujetos embarazados variaba entre 20 y 100 pg/µL. Como se conoce que el componente fetal del ADNsc de plasma contribuye al 3-10 % del ADNsc de plasma total, se crearon muestras de plasma artificiales enriqueciendo alícuotas de ADNsc derivadas de plasma de sujetos femeninos voluntarios con ADNsc extraído de plasma de sujetos masculinos voluntarios para imitar las relaciones entre ADNsc fetal y materno encontradas en los sujetos embarazados. Se crearon muestras artificiales para contener 200-1000 pg de ADNsc femenino extraído que se enriqueció con 45-150 pg de ADNsc masculino extraído en un volumen total de 10 µL. Cada muestra artificial se enriqueció para contener 3 %, 5 % y 10 % de ADNsc masculino.

Se preamplificaron muestras artificiales que tienen concentraciones de ADNsc total inferiores a aproximadamente 50 pg/µL usando la amplificación por PCR de amplificación por extensión de cebadores mejorados modificados (mIPEP) según el método de Hanson y Ballantyne (Hanson y Ballantyne, Analytical Biochem 346:246-257 [2005]) del siguiente modo. Se amplificaron diez microlitros de ADNsc de plasma enriquecido en un volumen de reacción de 25 µL que contenía dNTP 1 mM, MgCl₂ 2,5mM (Applied Biosystems), tampón IX Expand High Fidelity (Nº 3), 10,5 U de mezcla de enzimas Expand High Fidelity (Roche Diagnostics) y cebador PEP 40 µM (5'-NNNNNNNNNNNNNNNN-3', Qiagen). La amplificación se realizó en un ciclador térmico GeneAmp PCR System 9700 en las siguientes condiciones: (1) 20 y 30 ciclos de 94 °C durante 1 minuto, 37 °C durante 2 minutos, y rampa de 0,1 °C/s hasta 55 °C durante 4 minutos. El producto de amplificación se purificó usando una columna Qiagen. La concentración del producto de amplificación se determinó usando la plataforma de cuantificación Qubit™ como se ha descrito anteriormente. Se realizó el análisis de STR como se describe en el Ejemplo 9 anterior, excepto que solo se incluyeron alturas de pico >100 URF en los cálculos.

Los resultados se muestran en las Tablas 9, 10 y 11. Los resultados proporcionados en la Tabla 9 muestran que el ADNsc contenido en 10 µL de ADNsc de muestras artificiales ART23 y ART24 que tienen una concentración inicial de ADNsc de 46,2 y 50,2 pg/µL, respectivamente, se amplificó en aproximadamente 5 y 10 veces tras 20 y 30 ciclos de amplificación por PCR, respectivamente.

Estos datos indican que una preamplificación de ADNsc usando el método mIPEP proporcionó niveles potenciados de ADNsc total que hacen que el nivel del componente secundario sea más susceptible al análisis de STR.

TABLA 9 Preamplificación con mIPEP

MUESTRA	ADNsc sin mIPEP (pg/ µL)	ADNsc con mIPEP: 20 ciclos de PCR (pg/50 µL)	ADNsc con mIPEP: 30 ciclos de PCR (pg/50 µL)
ART23	46,2	2265	4125
ART24	50,2	2085	3875

La Tabla 10 muestra mediciones por triplicado que perfilan 9 loci del ADNsc de muestras enriquecidas ART23 y ART24 siguiendo el procedimiento de mIPEP con 20 y 30 ciclos de amplificación, como se ha descrito anteriormente.

Los datos en la Tabla 11 indican que la preamplificación de ADNsc permite la detección y la cuantificación del componente secundario en la mayoría de los loci probados en muestras artificialmente mezcladas que tienen una

TABLA 10 Preamplificación por mIPEP y detección de componente secundario

Locus de STR	Alelo	ART23 (453 pg) mIPEP amplificado 20 ciclos	ART23 (825 pg) mIPEP amplificado 20 ciclos	ART23 (462 pg) ADNsc sin amplificar extraído	Alelo	ART24 (417 pg) mIPEP amplificado 30 ciclos	ART24 (775 pg) mIPEP amplificado 30 ciclos	ART24 (502 pg) ADNsc sin amplificar extraído
AMEL	X/Y	291/95	397/170	535/832	X/Y	695/359	1878/114 8	1564/1959
AMEL	X/Y	425/147	428/188	675/1048	X/Y	1216/619	1551/954	1573/1943
AMEL	X/Y	267/94	455/203	664/1043	X/Y	718/363	1479/924	1621/2024
CSF1PO	10/11	800/979	725/1009	1429/1325	11/12	2029/1317	4159/231 7	2990/3083
CSF1PO	10/11	1147/1432	789/1102	1779/1650	11/12	3449/2223	3460/113 /1890	2996/3118
CSF1PO	10/11	729/906	831/1162	1783/1657	11/12	2006/1309	3362/1840	3072/3183
D13S317	12	743	515	1229	11	955	1490	3634
D13S317	12	1079	563	1534	11	1631	1198	3631
D13S317	12	668	583	1520	11	968	1170	3795
D16S539	9/10	239/140	370/466	835/676	10/11	513/512	1173/1472	1678/973
D16S539	9/10	347/203	64*(OL)/3 91/489	1046/864	10/11	859/870	973/1212	1730/999
D16S539	9/10	227/134	441/515	1055/860	10/11	530/513	960/1183	1784/1044
D18S51	14/15	359/464	363/220	785/541	12/18	1044/576	1840/786	2559/1507
		512/645	391/226	999/672	12/18	1769/994	1511/643	2565/1469
		313/402	409/245	994/685	12/18	1033/567	1496/631	2643/1523
D21S11	29/32	103/104	114/173	605/413	31,2	381	661	3276
		149/153	130/182	759/523	31,2	650	536	3028
		85/86	131/196	760/525	31,2	380	520	3282
D2S1338	18/20	572/383	428/363	1116/1013	19/20	1066/433	2315/124 3	2962/2968

		ART23 (453 pg) mIPEP amplificado 20 ciclos	ART23 (825 pg) mIPEP amplificado 20 ciclos	ART23 (462 pg) ADNsc sin amplificar extraído	Alelo	ART24 (417 pg) mIPEP amplificado 30 ciclos	ART24 (775 pg) mIPEP amplificado 30 ciclos	ART24 (502 pg) ADNsc sin amplificar extraído
Locus de STR	Alelo	Altura de alelo	Altura de alelo	Altura de alelo	Alelo	Altura de alelo	Altura de alelo	Altura de alelo
		827/553	454/386	1428/1279	19/20	1821/757	1901/101	2942/2942
		530/351	482/408	1431/1275	19/20	1063/444	1859/101 2	3072/3067
D7S820	11/12	262/167	149/270	557/627	11/12	256/138	520/322	1550/1548
		62/366/23 1	162/292	699/775	11/12	448/236	419/258	1484/1466
		224/146	169/307	689/779	11/12	253/141	406/250	1579/1573
FGA	21/23	263/146	181/88	596/365	22/24	228/244	375/429	1272/1064
		384/215	191/92	762/450	22/24	409/425	303/345	1221/1023
		230/136	202/102	749/456	22/24	232/250	297/348	1298/1087
*OL" significa "medición fuera de la escalera"								

TABLA 11 Fracción fetal determinada en una muestra después de la preamplificación usando mIPEP

Marcador de STR	Alelo 1/ Altura	Alelo 2/ Altura	Alelo 3/ Altura	Alelo 4/ Altura	Porcentaje de fracción secundaria/STR - secundaria >100 URF	Porcentaje de fracción secundaria/STR - secundaria <100 URF
Amelogenina	X/2799	Y/207				
Amelogenina	X/2751	Y/198				
Amelogenina	X/3109	Y/232				
	X/2886	Y/212			7	
CSF1PO	10/2377	11/1869	12/508			
CSF1PO	10/2299	11/1814	12/498			
CSF1PO	10/2616	11/206	12/562			
	10/2431	11/1917	12/523		12	
D13S317	10/1232	11/1600	13/186			
D13S317	10/1208	11/1548	13/182			
D13S317	10/1386	11/1758	13/212			
	10/1275	11/1635	13/193		12	
D16S539	11/757	12/933				
D16S539	11/729	12/885				
D16S539	11/836	12/1031				
	11/774	12/950			12	
D18S51	<u>OL/80</u>	14/3137	15/371			
D18S51	<u>11/73</u>	14/3082	15/362			
D18S51	<u>OL/83</u>	14/3488	15/413			
	<u>OL</u>	14/3236	15/382			
D21S11	29/953	30/941				
D21S11	29/921	30/908				
D21S11	29/1046	30/1045				
	29/973	30/965				
D2S1338	17/461	18/366	20/2280	24/1760		
D2S1338	17/460	18/360	20/2240	24/1712		
D2S1338	17/508	18/409	20/2563	24/1971		
	17/476	18/378	20/2361	24/1814	20	
D7S820	8/1409	9/60	12/1059			
D7S820	8/1380	9/60	12/1036			
D7S820	8/1561	9/69	12/1166			
	8/1450	9/63	12/1087			2

Marcador de STR	Alelo 1/ Altura	Alelo 2/ Altura	Alelo 3/ Altura	Alelo 4/ Altura	Porcentaje de fracción secundaria/STR - secundaria >100 URF	Porcentaje de fracción secundaria/STR - secundaria <100 URF
FGA	19/825	21/850	25/279			
FGA	19/807	21/841	25/265			
FGA	19/913	21/958	25/306			
	19/848	21/883	25/283		16	
% de fracción fetal > 100 URF para el alelo secundario → 12					12	
% de fracción fetal que incluye <100 URF para el alelo secundario → 11						11

Ejemplo 12

Correlación de fracción fetal determinada por análisis de SNP y STR fetales y maternas

5 Para verificar que la fracción fetal calculada, es decir, la fracción de componente de ácido nucleico secundario, determinada usando el ensayo de SNP y STR como se describe en los ejemplos precedentes proporcionó una medición precisa de la fracción fetal, se comparó el porcentaje de la fracción fetal de ADNsc en el plasma de los mismos sujetos embarazados.

10 Se obtuvieron muestras de sangre periférica de 48 sujetos voluntarios, 24 de los sujetos estuvieron embarazados con fetos varones y 24 estuvieron embarazados con fetos hembra. Se preparó ADNsc como se describe en el Ejemplo 1, se determinó la fracción fetal usando SNP en secuenciación masiva en paralelo por síntesis como se describe en el Ejemplo 5 y se determinó la fracción fetal usando STR usando electroforesis capilar como se describe en el Ejemplo 10

15 Los resultados mostrados en la **Figura 6** indican que existe una correlación positiva entre la fracción determinada usando el ensayo de STR y la fracción determinada usando la fracción determinada. Estos datos validan además el uso de secuencias polimórficas que comprenden STR o SNP para determinar la fracción de ADNsc fetal en una muestra de plasma.

Ejemplo 13

Uso de fracción fetal para establecer umbrales y estimar el tamaño de muestra mínimo en la detección de aneuploidía

20 Se manipulan los recuentos de coincidencias de secuencias con cromosomas diferentes para generar una puntuación que variará con el número de copias cromosómicas que se pueden interpretar para identificar amplificación o delección cromosómica. Por ejemplo, dicha puntuación se podría generar comparando la cantidad relativa de una marca de secuencia en un cromosoma que experimenta cambios del número de copias con un cromosoma que se sabe que es euploide. Los ejemplos de puntuaciones que se pueden usar para identificar amplificación o delección incluyen, pero no se limitan a: recuentos para el cromosoma de interés dividido entre recuentos de otro cromosoma de la misma serie experimental, recuentos para el cromosoma de interés dividido entre el número total de recuentos de la serie experimental, comparación de recuentos de la muestra de interés frente a una muestra separada de control. Sin pérdida de generalidad, se puede asumir que las puntuaciones aumentarán a medida que aumente el número de copias. Se puede usar el conocimiento de fracción fetal para establecer los umbrales de corte para identificar estados de "aneuploidía", "normales" o "marginales" (incierto). Entonces, se realizan cálculos para estimar el número mínimo de secuencias requerido para lograr sensibilidad adecuada (es decir, probabilidad de identificar correctamente un estado de aneuploidía).

35 La **Figura 7** es un gráfico de dos poblaciones de puntuaciones diferentes. El eje x es la puntuación y el eje y es la frecuencia. Las puntuaciones en muestras de cromosomas sin aneuploidía pueden tener una distribución que se muestra en la **Figura 7A**. La **Figura 7B** ilustra una distribución hipotética de una población de puntuaciones en muestras con un cromosoma amplificado. Sin pérdida de generalidad, los gráficos y las ecuaciones muestran el caso de una puntuación univariante donde la condición de aneuploidía representa una amplificación del número de copias. Los casos multivariantes y/o las anomalías de reducción/delección son simples extensiones o transposiciones de las descripciones dadas y se entiende que entran dentro del alcance de esta técnica.

40 La cantidad de "solapamiento" entre las poblaciones puede determinar cómo de bien se pueden discriminar casos normales y de aneuploidía. En general, al aumentar la fracción fetal, ff, aumenta la potencia de discriminación separando los dos centros de poblaciones (moviendo "C2," el "Centro de puntuaciones de aneuploidía", y aumentando

"d", que hace que las poblaciones se solapen menos. Además, un aumento en el valor absoluto de la magnitud, m, (por ejemplo, que tiene cuatro copias del cromosoma en lugar de una trisomía) de la amplificación también aumentará la separación de centros de población que conducen a mayor potencia (es decir, mayor probabilidad de identificar correctamente los estados de aneuploidía).

- 5 El aumento en el número de secuencias generadas, N, reduce las desviaciones estándar "sdevA" y/o "sdevB", la diseminación de las dos poblaciones de puntuaciones, que también hace que las poblaciones se solapen menos.

Establecimiento de umbrales y estimación del tamaño de muestra

- 10 Se puede usar el siguiente procedimiento para establecer "c", el valor crítico para identificar estados de "aneuploidía", "normales" o "marginales" (incierto). Sin pérdida de generalidad, a continuación, se usan pruebas estadísticas unilaterales.

Primero, se decide una tasa de positivos falsos aceptable, FP (algunas veces también llamado "error de tipo I" o "especificidad"), que es la probabilidad de un positivo falso o que se llama de forma falsa aneuploidía. Por ejemplo, FP puede ser al menos, o aproximadamente 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09 o 0,1.

- 15 Segundo, el valor de "c" se puede determinar resolviendo la ecuación: $FP = \int_c^{\infty} f_1(x)dx$.

$$FP = \int_c^{\infty} f_1(x)dx \quad (\text{Ecuación 1})$$

- 20 Una vez se ha determinado un valor crítico, c, se puede estimar el número mínimo de secuencias requeridas para lograr una cierta TP = Tasa de positivos verdaderos. La tasa de positivos verdaderos puede ser, por ejemplo, aproximadamente 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 o 0,9. En una realización, la tasa de positivos verdaderos puede ser 0,8. En otras palabras, N es el número mínimo de secuencias requerido para identificar aneuploidía el $100 \cdot TP$ por ciento del tiempo. N = número mínimo de forma que $TP = \int_c^{\infty} f_2(x, N)dx > 0,8$. N se determina resolviendo

$$\min_N s.t. \{TB \geq \int_c^{\infty} f_2(x, N)dx\} \quad (\text{Ecuación 2})$$

- 25 En las pruebas estadísticas clásicas f_1 y f_2 son frecuentemente F, distribuciones F no centradas (un caso especial de distribuciones t y t no centradas), aunque esto no es una condición necesaria para la presente solicitud.

Establecimiento de "niveles" de umbrales para dar más control de errores

Los umbrales también se pueden establecer en etapas usando los métodos anteriores. Por ejemplo, se puede establecer un umbral para alta confianza que se llama "aneuploidía", llamémosla c_a , usando FP 0,001 y un umbral "marginal", llamémoslo c_b , usando FP 0,05. En este caso, si la puntuación, S:

- 30 (S > c_a) entonces se llama "Trisomía"
($c_b > S \geq c_a$) entonces se llama "Marginal"
(S < c_b) entonces se llama "Normal"

Algunas generalizaciones triviales que se encuentran dentro del alcance de esta técnica

- 35 Se pueden usar diferentes valores para los umbrales, tales como TP, FP, etc. Los procedimientos se pueden realizar en cualquier orden. Por ejemplo, se puede empezar con N y resolver para c, etc. Las distribuciones pueden depender de ff de manera que $f_1(x, N, ff)$, $f_2(x, N, ff)$, y/u otras variables. Las ecuaciones integrales anteriores se pueden resolver por referencia a tablas o por métodos informáticos iterativos. Puede estimarse un parámetro no de centralidad y la potencia se pueden leer de tablas estadísticas estándar. La potencia estadística y los tamaños de muestras pueden derivar del cálculo o la estimación de medias cuadradas estimadas. Se pueden usar distribuciones teóricas de forma
40 cerrada, tales como f, t, t no centrada, normal, etc. o estimaciones (kernel u otras) para modelar las distribuciones f_1 , f_2 . Se puede usar el establecimiento de umbrales empíricos y la selección de parámetros usando curvas de eficacia diagnóstica (ROC) y cotejarse con la fracción fetal. Se pueden usar diversas estimaciones de la dispersión de la distribución (varianza, desviación absoluta media, intervalo intercuartílico, etc.). Se pueden usar diversas estimaciones del centro de distribución (media, mediana de, etc.). Se pueden usar pruebas estadísticas bilaterales a diferencia de
45 unilaterales. La prueba de hipótesis simple puede reformularse como regresión lineal o no lineal. Se pueden usar métodos combinatorios, simulación (por ejemplo, monte carlo), maximización (por ejemplo, maximización de la esperanza), métodos iterativos u otros métodos independientemente o junto con los anteriores para establecer la potencia estadística o los umbrales.

LISTADO DE SECUENCIAS

	<110> VERINATA HEALTH, INC.	
5	<120> MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS FETALES EN MUESTRAS MATERNAS	
	<130> P072639EP	
	<140> PCT/US2010/058606	
10	<141> 01-12-2010	
	<150> 61/455,849	
	<151> 2010-10-26	
15	<150> 61/407,017	
	<151> 2010-10-26	
	<150> 61/360,837	
	<151> 2010-07-01	
20	<150> 61/296,358	
	<151> 2010-01-19	
	<160> 427	
25	<170> PatentIn versión 3.5	
	<210> 1	
	<211> 111	
	<212> ADN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 1	
	cacatgcaca gccagcaacc ctgtcagcag gagttccac cagtttcttt ctgagaacat	60
	ctgttcaggt ttctctccat ctctatttac tcaggtcaca ggaccttggg g	111
35	<210> 2	
	<211> 111	

ES 2 870 533 T3

	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 2	
	cacatgcaca gccagcaacc ctgtcagcag gagttccac cagtttcttt ctgagaacat	60
5	ctgttcaggt ttctctccat ctctgtttac tcaggtcaca ggaccttggg g	111
	<210> 3	
	<211> 126	
	<212> ADN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 3	
	tgaggaagtg aggctcagag ggtaagaaac tttgtcacag agctggtggt gagggaggag	60
	attttacact ccctgcctcc cacaccagtt tctccagagt ggaaagactt tcatctcgca	120
	ctggca	126
15	<210> 4	
	<211> 126	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 4	
	tgaggaagtg aggctcagag ggtaagaaac tttgtcacag agctggtggt gagggaggag	60
	attttacact ccctgcctcc cacaccagtt tctccgagt ggaaagactt tcatctcgca	120
	ctggca	126
	<210> 5	
	<211> 121	
25	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 5	
	gtgccttcag aacctttgag atctgattct atttttaaaag cttcttagaa gagagattgc	60
	aaagtgggtt gtttctctag ccagacaggg caggcaaata ggggtggctg gtgggatggg	120
	a	121

ES 2 870 533 T3

	<210> 6		
	<211> 121		
	<212> ADN		
5	<213> Homo sapiens		
	<400> 6		
	gtgccttcag aacctttgag atctgattct atttttaaaag cttcttagaa gagagattgc	60	
	aaagtgggtt gtttctctag ccagacaggg caggtaaata ggggtggctg gtgggatggg	120	
	a	121	
10	<210> 7		
	<211> 111		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 7		
	aggtgtgtct ctcttttgtg aggggagggg tcccttctgg cctagtagag ggcctggcct	60	
	gcagtgagca ttcaaatacct caaggaacag ggtggggagg tgggacaaag g	111	
	<210> 8		
	<211> 111		
20	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 8		
	aggtgtgtct ctcttttgtg aggggagggg tcccttctgg cctagtagag ggcctggcct	60	
	gcagtgagca ttcaaatacct cgaggaacag ggtggggagg tgggacaaag g	111	
25	<210> 9		
	<211> 139		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 9		

ES 2 870 533 T3

	cctcgccctac tgtgctgttt ctaaccatca tgcttttccc tgaatctctt gagtcttttt	60
	ctgctgtgga ctgaaacttg atcctgagat tcacctctag tccctctgag cagcctcctg	120
	gaatactcag ctgggatgg	139
	<210> 10	
	<211> 139	
5	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 10	
	cctcgccctac tgtgctgttt ctaaccatca tgcttttccc tgaatctctt gagtcttttt	60
	ctgctgtgga ctgaaacttg atcctgagat tcacctctag tccctctggg cagcctcctg	120
	gaatactcag ctgggatgg	139
10	<210> 11	
	<211> 117	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 11	
	aattgcaatg gtgagagggt gatggtaaaa tcaaacggaa cttgttattt tgtcattctg	60
	atggactgga actgaggatt ttcaatttcc tctccaaccc aagacacttc tcaactgg	117
	<210> 12	
20	<211> 117	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 12	
	aattgcaatg gtgagagggt gatggtaaaa tcaaacggaa cttgttattt tgtcattctg	60
25	atggactgga actgaggatt ttcaatttcc tttccaaccc aagacacttc tcaactgg	117
	<210> 13	
	<211> 114	
	<212> ADN	
30	<213> Homo sapiens	

ES 2 870 533 T3

	<400> 13	
	gaaatgcctt ctcaggtaat ggaaggttat ccaaataattt ttcgtaagta tttcaaatag	60
	caatggctcg tctatggtta gtctcacagc cacattctca gaactgctca aacc	114
5	<210> 14	
	<211> 114	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
10	<400> 14	
	gaaatgcctt ctcaggtaat ggaaggttat ccaaataattt ttcgtaagta tttcaaatag	60
	caatggctcg tctatggtta gtctcgagc cacattctca gaactgctca aacc	114
	<210> 15	
	<211> 128	
15	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 15	
	acccaaaaca ctggaggggc ctcttctcat tttcggtaga ctgcaagtgt tagccgctcg	60
	gaccagcttc tgtctggaag ttcgtcaaat tgcagttaag tccaagtatg ccacatagca	120
	gataagg	128
20	<210> 16	
	<211> 128	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 16	
	acccaaaaca ctggaggggc ctcttctcat tttcggtaga ctgcaagtgt tagccgctcg	60
	gaccagcttc tgtctggaag ttcgtcaaat tgcagttagg tccaagtatg ccacatagca	120
	gataagg	128
	<210> 17	
30	<211> 110	

ES 2 870 533 T3

	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 17	
5	gcaccagaat ttaaacaacg ctgacaataa atatgcagtc gatgatgact tcccagagct	60
	ccagaagcaa ctccagcaca cagagaggcg ctgatgtgcc tgtcaggtgc	110
	<210> 18	
	<211> 110	
	<212> ADN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 18	
	gcaccagaat ttaaacaacg ctgacaataa atatgcagtc gatgatgact tcccagagct	60
	ccagaagcaa ctccagcaca cggagaggcg ctgatgtgcc tgtcaggtgc	110
15	<210> 19	
	<211> 116	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 19	
	tgactgtata cccaggtgc acccttgggt catctctatc atagaactta tctcacagag	60
	tataagagct gatttctgtg tctgcctctc aactagact tccacatcct tagtgc	116
	<210> 20	
	<211> 116	
25	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 20	
	tgactgtata cccaggtgc acccttgggt catctctatc atagaactta tctcacagag	60
	tataagagct gatttctgtg tctgcctgtc aactagact tccacatcct tagtgc	116
30	<210> 21	
	<211> 110	
	<212> ADN	

ES 2 870 533 T3

<213> Homo sapiens

<400> 21

tgtacgtggt caccagggga cgcctggcgc tgcgaggag gccccgagcc tcgtgcccc 60
gtgaagcttc agctcccctc cccggctgtc cttgaggctc ttctcacact 110

5

<210> 22

<211> 110

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 22

tgtacgtggt caccagggga cgcctggcgc tgcgaggag gccccgagcc tcgtgcccc 60
gtgaagcttc agctcccctc cctggctgtc cttgaggctc ttctcacact 110

<210> 23

15

<211> 114

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 23

20

cagtggaccc tgctgcacct ttctcccct cccatcaacc tcttttgtgc ctccccctcc 60
gtgtaccacc ttctctgtca ccaaccctgg cctcacaact ctctcctttg ccac 114

<210> 24

<211> 114

<212> ADN

25

<213> Homo sapiens

<400> 24

cagtggaccc tgctgcacct ttctcccct cccatcaacc tcttttgtgc ctccccctcc 60
gtgtaccacc ttctctgtca ccaccctgg cctcacaact ctctcctttg ccac 114

30

<210> 25

<211> 110

<212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 870 533 T3

	<400> 25	
	cagtggcata gtagtccagg ggctcctcct cagcacctcc agcaccttcc aggaggcagc	60
	agcgcaggca gagaacccgc tggaagaatc ggcggaagtt gtcggagagg	110
5		
	<210> 26	
	<211> 110	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
10		
	<400> 26	
	cagtggcata gtagtccagg ggctcctcct cagcacctcc agcaccttcc aggaggcagc	60
	agcgcaggca gagaacccgc tggaaggatc ggcggaagtt gtcggagagg	110
	<210> 27	
15	<211> 129	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 27	
	aggctctgggg gccgctgaat gccaaagctgg gaatcttaaa tgttaaggaa caaggtcata	60
	caatgaatgg tgtgatgtaa aagcttggga ggtgatttct gagggtaggt gctgggttta	120
20	atgggagga	129
	<210> 28	
	<211> 129	
	<212> ADN	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 28	
	aggctctgggg gccgctgaat gccaaagctgg gaatcttaaa tgttaaggaa caaggtcata	60
	caatgaatgg tgtgatgtaa aagcttggga ggtgattttt gagggtaggt gctgggttta	120
	atgggagga	129
30	<210> 29	
	<211> 107	

ES 2 870 533 T3

	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 29	
5	acggttctgt cctgtagggg agaaaagtcc tcgttggtcc tctgggatgc aacatgagag	60
	agcagcacac tgaggcttta tggattgccc tgccacaagt gaacagg	107
	<210> 30	
	<211> 107	
	<212> ADN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 30	
	acggttctgt cctgtagggg agaaaagtcc tcgttggtcc tctgggatgc aacatgagag	60
	agcagcacac tgaggcttta tgggttgccc tgccacaagt gaacagg	107
15	<210> 31	
	<211> 127	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 31	
	gcgcagtcag atgggcgtgc tggcgtctgt cttctctctc tcctgctctc tggttcatt	60
	tttctctcct tctgtctcac cttctttcgt gtgcctgtgc acacacacgt ttgggacaag	120
	ggctgga	127
	<210> 32	
	<211> 127	
25	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 32	
	gcgcagtcag atgggcgtgc tggcgtctgt cttctctctc tcctgctctc tggttcatt	60
	tttctctcct tctgtctcac cttctttcgt gtgcctgtgc atacacacgt ttgggacaag	120
	ggctgga	127

ES 2 870 533 T3

	<210> 33	
	<211> 130	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 33	
	gccggacctg cgaaatccca aaatgccaaa cattcccgcc tcacatgatc ccagagagag	60
	gggacccagt gttcccagct tgcagctgag gagcccgagg ttgccgtcag atcagagccc	120
	cagttgcccg	130
	<210> 34	
10	<211> 130	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 34	
	gccggacctg cgaaatccca aaatgccaaa cattcccgcc tcacatgatc ccagagagag	60
	gggacccagt gttcccagct tgcagctgag gagcccgagt ttgccgtcag atcagagccc	120
15	cagttgcccg	130
	<210> 35	
	<211> 121	
	<212> ADN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 35	
	agcagcctcc ctcgactagc tcacactacg ataaggaaaa ttcattgagct ggtgtccaag	60
	gagggctggg tgactcgtgg ctcagtcagc atcaagattc ctttcgtctt tcccctctgc	120
	c	121
25	<210> 36	
	<211> 121	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 36	

ES 2 870 533 T3

	agcagcctcc ctcgactagc tcacactacg ataaggaaaa ttcattgagct ggtgtccaag	60
	gagggctggg tgactcgtgg ctcaagcagc gtcaagattc ctttcgtctt tccccctctgc	120
	c	121
	<210> 37	
	<211> 138	
5	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 37	
	tggcattgcc tgtaatatatac atagccatgg ttttttatag gcaatttaag atgaatagct	60
	tctaaactat agataagttt cattacccca ggaagctgaa ctatagctac tttacccaaa	120
	atcattagaa tgggtgctt	138
10	<210> 38	
	<211> 138	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 38	
	tggcattgcc tgtaatatatac atagccatgg ttttttatag gcaatttaag atgaatagct	60
	tctaaactat agataagttt cattacccca ggaagctgaa ctatagctac tttcccaaaa	120
	atcattagaa tgggtgctt	138
	<210> 39	
20	<211> 136	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 39	
	atgaagcctt ccaccaactg cctgtatgac tcatctgggg acttctgctc tataactcaa	60
	gtggcttagt cactgccaat gtatttccat atgagggacg atgattacta aggaaatata	120
25	gaaacaacaa ctgatac	136
	<210> 40	
	<211> 136	

ES 2 870 533 T3

	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 40	
5	atgaagcctt ccaccaactg cctgtatgac tcatctgggg acttctgctc tataactcaaa	60
	gtggcttagt cactgccaat gtatttccat atgagggacg gtgattacta aggaaatata	120
	gaaacaacaa ctgata	136
	<210> 41	
	<211> 118	
10	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 41	
	acaacagaat caggtgattg gagaaaagat cacaggccta ggcacccaag gcttgaagga	60
15	tgaagaatg aaagatggac ggaacaaaat taggacctta attctttgtt cagttcag	118
	<210> 42	
	<211> 118	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 42	
	acaacagaat caggtgattg gagaaaagat cacaggccta ggcacccaag gcttgaagga	60
	tgaagaatg aaagatggac ggaagaaaat taggacctta attctttgtt cagttcag	118
	<210> 43	
25	<211> 150	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 43	
	ttggggtaaa ttttcattgt catatgtgga atttaaatat accatcatct acaaagaatt	60
	ccacagagtt aaatatctta agttaaacac ttaaaataag tgtttgcgtg atattttgat	120
30	gacagataaa cagagtctaa ttcccccccc	150

ES 2 870 533 T3

	<210> 44	
	<211> 150	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 44	
	ttgggggtaaa ttttcattgt catatgtgga atttaaatat accatcatct acaaagaatt	60
	ccacagagtt aaatatctta agttaaacac ttaaaataag tgtttgctg atattttgat	120
	gatagataaa cagagtctaa ttcccacccc	150
	<210> 45	
10	<211> 145	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 45	
	tgcaattcaa atcaggaagt atgacaaaa gacagagatc ttttttggat gatccctagc	60
	ctagcaatgc ctggcagcca tgcaggtgca atgtcaacct taaataatgt attgcaaact	120
15	cagagctgac aaacctcgat gttgc	145
	<210> 46	
	<211> 145	
	<212> ADN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 46	
	tgcaattcaa atcaggaagt atgacaaaa gacagagatc ttttttggat gatccctagc	60
	ctagcaatgc ctggcagcca tgcaggtgca atgtcaacct taaataatgt attgcaaatt	120
	cagagctgac aaacctcgat gttgc	145
25	<210> 47	
	<211> 124	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 47	

ES 2 870 533 T3

	ctgtgctctg cgaatagctg cagaagtaac ttggggaccc aaaataaagc agaatgctaa	60
	tgtcaagtcc tgagaaccaa gccctgggac tctggtgcca tttcggattc tccatgagca	120
	tggt	124
	<210> 48	
	<211> 124	
5	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 48	
	ctgtgctctg cgaatagctg cagaagtaac ttggggaccc aaaataaagc agaatgctaa	60
	tgtcaagtcc tgagaaccaa gccctgggac tctggtgcca tttcggattc tccatgagca	120
	tggt	124
10	<210> 49	
	<211> 118	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 49	
	tttttccagc caactcaagg ccaaaaaaaaaa tttcttaata tagttattat gcgaggggag	60
	gggaagcaaa ggagcacagg tagtccacag aataagacac aagaaacctc aagctgtg	118
	<210> 50	
20	<211> 118	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 50	
	tttttccagc caactcaagg ccaaaaaaaaaa tttcttaata tagttattat gcgaggggag	60
25	gggaagcaaa ggagcacagg tagtccacag aataggacac aagaaacctc aagctgtg	118
	<210> 51	
	<211> 110	
	<212> ADN	
30	<213> Homo sapiens	

ES 2 870 533 T3

	<400> 51	
	tcttctcgtc ccctaagcaa acaacatccg cttgcttctg tctgtgtaac cacagtgaat	60
	gggtgtgcac gcttgatggg cctctgagcc cctgttgac aaaccagaaa	110
5	<210> 52	
	<211> 110	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
10	<400> 52	
	tcttctcgtc ccctaagcaa acaacatccg cttgcttctg tctgtgtaac cacagtgaat	60
	gggtgtgcac gcttgatggg cctctgagcc cctgttgac aaaccagaaa	110
	<210> 53	
	<211> 110	
15	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 53	
	cacatggggg cattaagaat cgcccagga ggaggagga gaacgcgtgc ttttcacatt	60
	tgcatttgaa ttttcgagtt ccagagatgt gttttgtgc tcatcgatgt	110
20	<210> 54	
	<211> 110	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 54	
	cacatggggg cattaagaat cgcccagga ggaggagga gaacgcgtgc ttttcacatt	60
	tgcatttgaa ttttcgagtt ccagagatgt gttttgtgc tcatcgatgt	110
	<210> 55	
30	<211> 128	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	

ES 2 870 533 T3

	<400> 55	
	gggctctgag gtgtgtgaaa taaaaacaaa tgtccatgtc tgtcctttta tggcattttg	60
	ggactttaca tttcaaacat ttcagacatg tatcacaaca cgaaggaata acagttccag	120
	ggatatct	128
	<210> 56	
5	<211> 128	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 56	
	gggctctgag gtgtgtgaaa taaaaacaaa tgtccatgtc tgtcctttta tggcattttg	60
	ggactttaca tttcaaacat ttcagacatg tatcacaaca cgaggaata acagttccag	120
10	ggatatct	128
	<210> 57	
	<211> 21	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético	
20	<400> 57	
	cacatgcaca gccagcaacc c 21	
	<210> 58	
	<211> 23	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético	
30	<400> 58	
	ccccaaggtc ctgtgacctg agt 23	

<210> 59
 <211> 23
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 59
 tgaggaagtg aggctcagag ggt 23

 <210> 60
 <211> 24
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 60
 tgccagtgcg agatgaaagt cttt 24

 <210> 61
 25 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 61
 gtgccttcag aacctttgag atctga 27

 35 <210> 62
 <211> 20
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5

<400> 62

tcccatccca ccagccaccc 20

<210> 63

10 <211> 25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 63

agggtgtgtct ctctttgtg agggg 25

<210> 64

20 <211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 64

cctttgtccc acctcccccac c 21

30

<210> 65

<211> 26

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 65
cctgcctac tgtgctgtt ctaacc 26

5 <210> 66
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 66
ccatcccagc tgagtattcc aggag 25

15 <210> 67
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 67

25 aattgcaatg gtgagagggt gatggt 26

<210> 68
<211> 24
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 68
ccagtgagaa gtgtcttggg ttgg 24

<210> 69
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 69
 10 gaaatgcctt ctcaggtaat ggaaggt 27
 <210> 70
 <211> 27
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 70
 ggtttgagca gttctgagaa tgtggct 27
 <210> 71
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 71
 acccaaaaca ctggaggggc ct 22
 <210> 72
 35 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 72
 cccttatctg ctatgtggca tacttgg 27

<210> 73
 <211> 27

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 73
 gcaccagaat ttaacaacg ctgacaa 27

<210> 74
 <211> 22

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 74
 gcacctgaca ggcacatcag cg 22

<210> 75
 <211> 24

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 75
tgactgtata ccccaggtgc accc 24

<210> 76
5 <211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 76
gcactaagga tgtggaagtc tagtgtg 27

<210> 77
15 <211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 77
tgtacgtggt caccagggga cg 22

<210> 78
25 <211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 78
35 agtgtgagaa gaggcctaag gacagc 26

<210> 79

<211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 79
 cagtggaccc tgctgcacct t 21

10 <210> 80
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 80
 20 gtggcaaagg agagagttgt gagg 24

<210> 81
 <211> 24
 <212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

30 <400> 81
 cagtggcata gtagtcagg ggct 24

<210> 82
 <211> 21
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 82
 5 cctctccgac aacttcgcc g 21

<210> 83
 <211> 20
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 83
 15 aggtctgggg gccgctgaa 20

<210> 84
 <211> 23
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 84
 25 tcctccatt aaaccagca cct 23

<210> 85
 30 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 85

acggttctgt cctgtagggg aga 23

<210> 86

<211> 22

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

10

<400> 86

cctgttctact tgtggcaggg ca 22

<210> 87

15 <211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 87

gcgcagtcag atgggcgtgc 20

25 <210> 88

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 88

tccagccctt gtcccaaacg tgt 23

35

<210> 89

<211> 21

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 89
 gccggacctg cgaaatccca a 21

 10 <210> 90
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 90
 cgggcaactg gggctctgat c 21
 20
 <210> 91
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 91
 30 agcagcctcc ctcgactagc t 21

 <210> 92
 <211> 23
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 92
ggcagagggg aaagacgaaa gga 23

5

<210> 93
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 93
tggcattgcc tgtaataac atag 24

15

<210> 94
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 94
aagcaccatt ctaatgattt tgg 23

25

<210> 95
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 95
atgaagcctt ccaccaactg 20

<210> 96
 <211> 27
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 96
 gatcagttgt tgtttctata ttcctt 27

 <210> 97
 <211> 22
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 97
 acaacagaat caggtgattg ga 22

 <210> 98
 25 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 98
 ctgaactgaa caaagaatta aggtc 25

 35 <210> 99
 <211> 22
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 5

 <400> 99
 ttggggtaaa ttttcattgt ca 22

 <210> 100
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 100
 ggggtgggaa ttagactctg 20

 20 <210> 101
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 101
 tgcaattcaa atcaggaagt atg 23
 30

 <210> 102
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 102
gcaacatcga ggttgtcag 20

5 <210> 103
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 103
ctgtgctctg cgaatagctg 20

15 <210> 104
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 104

25 accatgctca tggagaatcc 20

<210> 105
<211> 20
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 105
 ttttccagc caactcaagg 20

<210> 106
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 106
 10 cacagcttga ggtttcttgt g 21
 <210> 107
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 107
 tcttctcgtc ccctaagcaa 20
 <210> 108
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 108
 ttctgggtt gtgcaacagg 20
 <210> 109
 35 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 109
 cacatggggg cattaagaa 20

<210> 110
 <211> 22

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 110
 acatcgatga gcacaaaaac ac 22

<210> 111
 <211> 20

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 111
 gggctctgag gtgtgtgaaa 20

30 <210> 112
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 112
agatatccct ggaactgta ttcc 24

<210> 113
5 <211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 113
acagtaactg ccttcataga tag 23

<210> 114
15 <211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 114
gtgtcagacc ctgttctaag ta 22

<210> 115
25 <211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 115
35 aaataaaatt aggcatattt acaagc 26

<210> 116

<211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 116
 gctgagtgat ttgtctgtaa ttg 23

10

<210> 117
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 117
 cctgttcctc ccttattcc c 21

20

<210> 118
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 118
 gggaacacag actccatggt g 21

30

<210> 119
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 119
 5 cttaggggaac cctcactgaa tg 22

<210> 120
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 120
 15 gtccttgta gcgtttatt gc 22

<210> 121
 <211> 26
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 121
 25 aataatcagt atgtgacttg gattga 26

<210> 122
 <211> 22
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 122

ataggatgga tggatagatg ga 22

<210> 123

<211> 21

5

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

10

<400> 123

cagagcaaga ccctgtctca t 21

<210> 124

15

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 124

tcaacagagg ctgcatgta t 21

25

<210> 125

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 125

gggtgatttt cctctttggt 20

35

<210> 126

<211> 33

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 126
 aacatttgta tctttatctg tctccttatt ta 33

 10 <210> 127
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 127
 gaacacttgt catagttag aacgaac 27
 20
 <210> 128
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 128
 30 tcattgacag aattgcacca 20

 <210> 129
 <211> 27
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 129
 ttgtatttc atgtgtacat tcgtatc 27

5

<210> 130
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 130
 acctatcctg tagattattt tcactgtg 28

15

<210> 131
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 131
 tctgacccat ctaacgccta 20

25

<210> 132
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 132
 cagacagaaa gatagataga tgattga 27

35

<210> 133
 <211> 21
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 133
 atacagacag acagacaggt g 21

 <210> 134
 <211> 23
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20
 <400> 134
 gcatgtatct atcatccatc tct 23

 <210> 135
 25 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 135
 tgagtgacaa attgagacct t 21

 35 <210> 136
 <211> 26
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 5

 <400> 136
 gtctacaat aacagtgct actatt 26

 <210> 137
 10 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 137
 attccccaag tgaattgc 18

 20 <210> 138
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 138
 ggtagataga ctggatagat agacga 26
 30

 <210> 139
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 139
tggaacaga aatggcttgg 20

5 <210> 140
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 140
gattgcagga gggaaggaag 20

15 <210> 141
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 141

25 gagcaagaca ccatctcaag aa 22

<210> 142
<211> 30
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 142
 gaaattttac atttatgttt atgattctct 30

<210> 143
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 143
 10 ggcgactgag caagactc 18
 <210> 144
 <211> 27
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 144
 gggttattaat tgagaaaact ccttaca 27
 <210> 145
 <211> 23
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 145
 attttcccg atgatatag tct 23
 <210> 146
 35 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 146
 gcgaatgtat gattggcaat atttt 26

<210> 147
 <211> 27

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 147
 acatgtatcc cagaactta agtaaac 27

<210> 148
 <211> 22

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 148
 gcagaaggga aaattgaagc tg 22

<210> 149
 <211> 22

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 149
cagagacacc gaaccaataa ga 22

5 <210> 150
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 150
gccacatgaa tcaattccta taataaa 27

15 <210> 151
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 151
gcacatgtac cctaaaaactt aaaa 25

25 <210> 152
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 152
gtcaaccaaa actcaacaag tagtaa 26

35 <210> 153

<211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 153
 aagatgaaat tgccatgtaa aaata 25

10 <210> 154
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 154
 gtgtgtataa caaaattcct atgatgg 27

20 <210> 155
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 155
 gcacccaaaa ctgaatgtca ta 22

30 <210> 156
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <210> 156
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 156
 5 ggtgagagtg agaccctgtc 20

<210> 157
 <211> 27
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 157
 15 tgtaataact ctacgactgt ctgtctg 27

<210> 158
 <211> 21
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 158
 25 gaataggagg tggatggatg g 21

<210> 159
 30 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 159

gagcgagacc ctgtctcaag 20

<210> 160
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 10

<400> 160
 ggaaaagaca taggatagca attt 24

<210> 161
 15 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 161
 tctggattga tctgtctgc c 21

<210> 162
 25 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 162
 gaattaaata ccatctgagc actgaa 26
 35

<210> 163
 <211> 27

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 163
 tgttataatg cattgagttt tattctg 27

 10 <210> 164
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 164
 gcctgtctca aaaataaaga gatagaca 28
 20
 <210> 165
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 165
 30 ttaatgaatt gaacaaatga gtgag 25

 <210> 166
 <211> 25
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 166
gcaactctgg ttgtattgtc ttca 25

5

<210> 167
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 167
caaagcgaga ctctgtctca a 21

15

<210> 168
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 168
gaaaatgcta tcctctttgg tataaa 27

25

<210> 169
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 169
gggtatttca agataactgt agatagg 27

<210> 170
 <211> 24
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 170
 gctctgaaa gctctagtt tacc 24

 <210> 171
 <211> 19
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20
 <400> 171
 tccacatcct caccaacac 19

 <210> 172
 25 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 172
 gcctaggaag gctactgtca a 21

 35 <210> 173
 <211> 18
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5

<400> 173

ccacccgtcc atttaggc 18

<210> 174

10 <211> 27

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 174

gtgaaaaagt agatataatg gttggtg 27

<210> 175

20 <211> 25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 175

ggtttccaa gagatagacc aatta 25

30 <210> 176

<211> 27

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 176
gtcctctcat aaatccctac tcatatc 27

5 <210> 177
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 177
ctgttggtac ataataggta ggtaggt 27

15 <210> 178
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 178

25 gtcgtgggcc ccataaatc 19

<210> 179
<211> 27
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 179
aaggtagata acagtcaat agaaagc 27

<210> 180
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 180
 10 gtgaaatgac tgaaaaatag taacca 26
 <210> 181
 <211> 24
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 181
 ctaggagatc atgtgggtat gatt 24
 <210> 182
 <211> 24
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 182
 gcagtgaata aatgaacgaa tgga 24
 <210> 183
 35 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 183
 cccaaaatta ctgagccaa t 21

<210> 184
 <211> 24

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 184
 gagacaaaat gaagaaacag acag 24

<210> 185
 <211> 25

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 185
 tctttgctct catgaataga ttagt 25

<210> 186
 <211> 24

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 186
gtttgtgata atgaaccac tcag 24

5 <210> 187
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 187
tgaacacaga tgtaagtgt gtatatg 27

15 <210> 188
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 188
gtctgagggtg gacagttatg aaa 23

25 <210> 189
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 189
35 ctgtggctca tctatgaaaa ctt 23

<210> 190

<211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 190
 gaagtggtg ttgtgttatg a 22

10 <210> 191
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 191
 ttctgttgg atagagcagt gttt 24

20 <210> 192
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 192
 gtgacaggaa ggacggaatg 20

30 <210> 193
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <210> 193
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 193
 5 catgagggtt gcaaatacta tcttaac 27

<210> 194
 <211> 24
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 194
 15 gttttaattt tctccaaatc tcca 24

<210> 195
 <211> 27
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 195
 25 tcttagccta gatagatact tgcttc 27

<210> 196
 30 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 196

gtcaaccttt gaggtatag gaa 23

<210> 197

<211> 19

5

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

10

<400> 197

tcctggaac aaaagtatt 19

<210> 198

15

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 198

aacctacaa caaagctaga a 21

25

<210> 199

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 199

actaagcctt ggggatccag 20

35

<210> 200

<211> 21

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 200
 tgctgtggaa atactaaaag g 21

 10 <210> 201
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 201
 ctccagaggt aatcctgtga 20
 20
 <210> 202
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 202
 30 tgggtgaga tggatatctag g 21

 <210> 203
 <211> 22
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 203
gtataatcca tgaatctgt tt 22

5

<210> 204
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 204

15

ttcaaattgt atataagaga gt 22

<210> 205
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25

<400> 205
gcaggaaagt tatttttaa 20

<210> 206
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 206
tgcttgagaa agctaacact t 21

<210> 207
 <211> 20
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 207
 cagtgttgg aaattgtctg 20

 <210> 208
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20
 <400> 208
 ggcactggga gattattgta 20

 <210> 209
 25 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 209
 tcctgttgtt aagtacaca 20

 35 <210> 210
 <211> 18
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 5

 <400> 210
 gggccgtaat tacttttg 18

 <210> 211
 10 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 211
 actcagtagg cactttgtgt c 21

 20 <210> 212
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 212
 tttccacca caccaatc 18
 30

 <210> 213
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 213
 tggctttca aaggtaaaa 19

5 <210> 214
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 214
 gcaacgtaa catctgaatt t 21

15 <210> 215

<400> 215
 000

20 <210> 216
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 216
 30 attttatatg tcatgatcta ag 22

<210> 217
 <211> 19
 <212> ADN

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 217
agagattaca ggtgtgagc 19

5

<210> 218
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 218
atgacacctca actgcctct 19

15

<210> 219
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 219
tgaaactcaa aagagaaaag 20

25

<210> 220
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 220
acagatttct acttaaaatt 20

<210> 221
 <211> 20
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 221
 tgaaactcaa aagagaaaag 20

 <210> 222
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20
 <400> 222
 acagatttct acttaaaatt 20

 <210> 223
 25 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 223
 gcaaaggggt actctatgta 20

 35 <210> 224
 <211> 20
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5

<400> 224

tatcgggtca tctgttaaa 20

<210> 225

10 <211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 225

tctaacaag ctctgtcaa aa 22

20 <210> 226

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 226

ccacactgaa taactggaac a 21

30 <210> 227

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 227
gcaagcaagc tctctacctt c 21

5 <210> 228
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 228
tgttctcca aaattcacat gc 22

15 <210> 229
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 229

25 atttcactat tcttcattt t 21

<210> 230
<211> 22
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 230
taattgttgc acactaaatt ac 22

<210> 231
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 231
 10 aaaaagccac agaaatcagt c 21
 <210> 232
 <211> 22
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 232
 ttcttatatc tcaactgggca tt 22
 <210> 233
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 233
 ggatggtaga agagaagaaa gg 22
 <210> 234
 35 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 234
 ggatggtaga agagaagaaa gg 22

<210> 235
 <211> 20

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 235
 tgcaaagatg cagaaccaac 20

<210> 236
 <211> 22

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 236
 tttgttcct tgcctggct ga 22

<210> 237
 <211> 20

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 237
tgcaaagatg cagaaccaac 20

<210> 238
5 <211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 238
gcctccagct ctatccaagt t 21

15 <210> 239
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 239
ccttaatatc ttcccatgtc ca 22

25 <210> 240
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 240
35 attgtagtg cctcttctgc tt 22

<210> 241

<211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 241
 gagaagtgag gtcagcagct 20

10

<210> 242
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 242
 20 ttctaaatt tcattgaac ag 22

<210> 243
 <211> 20
 <212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

30 <400> 243
 gaaattggca atctgattct 20

<210> 244
 <211> 21
 <212> ADN

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 244

5 caactgtgcc ttattgatg t 21

<210> 245

<211> 22

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 245

ctatgttgat aaaacattga aa 22

<210> 246

<211> 20

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25

<400> 246

gcctgtctgg aatatagttt 20

<210> 247

30 <211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 247

cagggcatat aatctaagct gt 22

<210> 248
<211> 21
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
10

<400> 248
caatgactct gagttgagca c 21

<210> 249
15 <211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 249
actctctccc tcccctct 18

25 <210> 250
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 250
tatggcccca aaactattct 20
35

<210> 251
<211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 251
 acaagtactg ggcagattga 20

10 <210> 252
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 252
 gccaggttta gcttcaagt 20

20 <210> 253
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 253

30 ttttatatca ggagaaacac tg 22

<210> 254
 <211> 21
 <212> ADN

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 254

ccagaatttt ggaggttaa t 21

5

<210> 255

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 255

15 tgcattcct ccttatctc ca 22

<210> 256

<211> 20

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 256

ttcttttgcc tctccaaag 20

<210> 257

<211> 20

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 257

accctggcac agtgttgact 20

<210> 258
 <211> 20
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 258
 tgggcctgag ttgagaagat 20

 <210> 259
 <211> 21
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20
 <400> 259
 aatttgtaag tatgtgcaac g 21

 <210> 260
 25 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 260
 tttttcccat ttccaactct 20

 35 <210> 261
 <211> 20
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5

<400> 261

aaaagatgag acaggcaggt 20

<210> 262

10 <211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 262

acccctgtga atctcaaaat 20

20 <210> 263

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 263

gcacttgctt ctattgttg t 21

30

<210> 264

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 264
cccttctct ctccattct 20

5 <210> 265
<211> 13
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 265
agcactgcag gta 13

15 <210> 266
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 266

25 acagatacca aagaactgca a 21

<210> 267
<211> 20
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 267
tggacacctt tcaactaga 20

<210> 268
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 268
 10 gaacagtaat gttgaacttt tt 22
 <210> 269
 <211> 21
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 269
 tcttgcaaaa agcttagcac a 21
 <210> 270
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 270
 aaaaagatct caaagggtcc a 21
 <210> 271
 35 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 271
 gcttttgctg aacatcaagt 20

<210> 272
 <211> 19

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 272
 ccttcagca gcatagtct 19

<210> 273
 <211> 18

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 273
 aaatccagga tgtgcagt 18

<210> 274
 <211> 19

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 274
atgatgaggt cagtgggtg 19

<210> 275
5 <211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 275
catcacagat catagtaa t gg 22

15 <210> 276
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 276
aattattatt ttgcaggcaa t 21

25 <210> 277
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 277
35 catgaggcaa acacctttcc 20

<210> 278

<211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 278
 gctggactca ggataaagaa ca 22

10

<210> 279
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 279
 20 tggaagcctg agctgactaa 20

<210> 280
 <211> 20
 <212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

30 <400> 280
 ccttcttttc cccagaatc 20

<210> 281
 <211> 21
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 281

5 taggagaaca gaagatcaga g 21

<210> 282

<211> 22

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 282

aaagactatt gctaaatgct tg 22

<210> 283

<211> 20

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25

<400> 283

taagcgtagg gctgtgtgtg 20

<210> 284

30 <211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 284

ggacggatag actccagaag g 21

<210> 285
<211> 23
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
10

<400> 285
gaatgacctt ggcacttta tca 23

<210> 286
15 <211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 286
aaggatagag atatacatgat gaattga 27

25 <210> 287
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 287
catgcaccgc gcaaatac 18
35

<210> 288
<211> 19

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 288
 atgcctcacc cacaacac 19

 10 <210> 289
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 289
 tccaagccct tctcactcac 20
 20
 <210> 290
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 290
 30 ctgggacggt gacattttct 20

 <210> 291
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 291

cccaggaaga gtggaagat t 21

5

<210> 292

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 292

15 ttagcttgca tgtacctgtg t 21

<210> 293

<211> 20

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 293

agctagatgg ggtgaatttt 20

<210> 294

<211> 18

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

<400> 294

tgggctgagg ggagattc 18

<210> 295
 <211> 22
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 10 <400> 295
 atcaagctaa ttaatgttat ct 22

 <210> 296
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20
 <400> 296
 aatgaataag gtcctcagag 20

 <210> 297
 25 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 297
 tttaatctga tcattgcctt a 21

 35 <210> 298
 <211> 18
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 5

 <400> 298
 agctgtgggt gacctga 18

 <210> 299
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 299
 tgtcccacca ttgtgtatta 20

 20 <210> 300
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

 <400> 300
 tcagacttga agtccaggat 20
 30

 <210> 301
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 301
gcttcagggg tgtagttt 20

5 <210> 302
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 302
ctttgtgaaa agtcgtccag 20

15 <210> 303
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 303

25 ccatcatgga aagcatgg 18

<210> 304
<211> 20
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35 <400> 304
tcatctccat gactgcacta 20

<210> 305
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 <400> 305
 10 gagatgacgg agtagctcat 20
 <210> 306
 <211> 18
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 20 <400> 306
 cccagctgca ctgtctac 18
 <210> 307
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético
 30 <400> 307
 tcttgtcca atcacaggac 20
 <210> 308
 35 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

5 <400> 308
 atgctgttag ctgaagctct 20

<210> 309
 <211> 20

10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

15 <400> 309
 tgaaagctcc taaagcagag 20

<210> 310
 <211> 20

20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

25 <400> 310
 ttgaagagat gtgctatcat 20

<210> 311
 <211> 54

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

35

ES 2 870 533 T3

<400> 311

gccgcctgca gccgcgcccc cccgtgcccc cgccccgccg ccggcccggg cgcc 54

<210> 312

5 <211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 312

catagtgaca ggtatatgcc caactaactg tggaaaacag ttctttcttt caaccttact	60
catcacccctc acggtctgtt tatgaggctc tcctccacca gccagaaagg atgacgtgcc	120
atacctgcaa aacttataca gcatcaacag aatgaatctt tccaacaagc cgaaacattg	180
agtattgtgg cacagaatat gccccacca ttactcaatc tagatatact tttattccac	240
cgtctcatga ttttcttttt cctggaaaac aaaagtattt ctttcatagc ccagctagca	300
ygataaatca gcgagtcaga attctagctt tgttgtaagg ttttgcgaa atctgatact	360
cttattttgt acttttctat ttcttaggca aatctgagta tttcaccag ttttccttaa	420
ctaggcattg aaaactcagt ttttttctta caaaccttca tgtcttcctg ctcatattgca	480
cagtcttatc ttgcacctcc tataaaatgg agaaacttga cattaaaacg taatttttat	540
tacattttga gggattccca gagaattttt cccaatctc cttaggtagg gacttcttta	600
c	601

<210> 313

<211> 601

15 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 313

ES 2 870 533 T3

gtgggaacta tagtaaagaa gtccctacct aaggagattg gggaaaaatt ctctgggaat 60
ccctcaaaat gtaataaaaa ttacgtttta atgtcaagtt tctccatttt ataggaggtg 120
caagataaga ctgtgcaaata gagcaggaag acatgaaggt ttgtaagaaa aaaactgagt 180
tttcaatgcc tagttaagga aaactgggtg aaatactcag atttgcctag gaaatagaaa 240
agtacaaaat aagaggatca gatattcgca aaaccttaca acaaagctag aattctgact 300
ygctgattta tcgtgctagc tgggctatga aagaaatact tttgttttcc aggaaaaaga 360
aaatcatgag acggtggaat aaaaggatat ctagattgag taatgggtgg ggcatattct 420
gtgccacaat actcaatggt tcggcttggt ggaaagattc attctgttga tgctgtataa 480
gttttgacagg tatggcacgt catcctttct ggctgggtga ggagagcctc ataaacagac 540
cgtgaggggtg atgagtaagg ttgaaagaaa gaactgtttt ccacagttag ttgggcatat 600
a 601

<210> 314

<211> 650

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 314

tttattgggtc ctgactggta caaatactga taaaaaggat ttttaagatca tattcatact 60
tttggggaat gagagccaca attaatatac aatgtctgcc atgagattgg atgcaagagt 120
atggcactca tactattcct acttctgtct aattacacta tttgtttctg tgtgcaaaaa 180
tctttggtag gtgggtggatg tgccaagac acaggaaga aaaagaagta aacaggaag 240
tacaacacag actctgaaat ggggcatcat ggaagacgga gctttgtcgt cttggtcttt 300
gctgtatatt cacttcctac aacagtgcta aataccttgt ggatgcttaa atatatataa 360
tgaatgcata aatgaaaaga gtaataaag agtgtatatg aaagtatgta gataaaattc 420
ttcactaagc cttggggatc cagctgcttm aggactaaga ccgtatctag ctcccttttag 480
tatttccaca gcatgccatg gagatacatg tttctgatta tatatgatac atggaaatta 540
tatgttggtg aatgagtgat tgagtaaatg tgtactaggg cagctaataca taaatatttc 600
tactattgct aaaatgactg gatttatcca ttccttctga gagtttatac 650

10

<210> 315

<211> 626

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 315

ES 2 870 533 T3

ctgcttaagg actaagaccr tatctagctc ctttttagtat ttccacagca tgccatggag	60
atacatgttt ctgattatat atgatacatg gaaattatat gttgttgaat gagtgattga	120
gtaaatgtgt actagggcag ctaatcataa atatttctac tattgctaaa atgactggat	180
ttatccattc cttctgagag tttatactga ttgcttatat tgtatcaaat accgtaactg	240
agggcaatgt ttactcaaac taatagcacc attcaaattt atgcaaacaa taacactata	300
tctttaaaat gttttcacta aaagctgcat aaagagtgtt ttcaacaaca atagaataat	360
tttacaatct tttttcttgc ttaatggcca tttgtgcctt ctgacatgct gctagccatt	420
caaaggctcac actaccttga agttgaagat caagacaaat gattagactc ataaaagaca	480
aatcacgtct ttctggacag gtgattatta ataattaatt agcatttaaa catgtattat	540
ttaagttctt ttttaagttat aaagtctttg atttgctaaa cagtttaaat aatgaataaa	600
acataaaata ataatagtta ccattt	626

<210> 316

<211> 1113

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 316

caagagctgc atctcactcc aatttttctt ctccctataa ccttatctag attcccagtt	60
gagggaaaccg atgacctaatt tcctctcagt ttaaattgcaa cacaggagca aattccaaat	120
atctatgctg gtcttgctgg gattgcagaa ccccaggggtg gttatccctcc tccagaggta	180
atcctgtgat cagcactaac rccacatacc agccctttca tcagcttggt ggagaagcat	240
ctttacttcc caccaagcag tgacctagat accatctcac accagttaga atcaggatca	300
ttaaaaagtc aagaaaaaac agatgctgaa gaggatgtgg agaaatagga atgcttttac	360
actgttagtg ggaatgtaa ttagttcaac cattgtcaaa gacagtgtgg cgatccctca	420
cagatctaga accagaaata ccatttgacc cagcaatccc attactgggt ctatacccaa	480
aggattataa attactctac tataaagaca catgcacaca tatgtttatt gcagcaccat	540
tcacaatagc aaagaattgc aaccaaccct aatgcccatc aatgacagac tggataaaga	600
aaatctggca catatacacc atggaatact acgcagccat aaaaaaggat gagtttatgt	660
cctttacagg gacatggatg aagctggaaa ccatcattct cagcaaaacta acacaggaac	720
agaaaaccaa acacatgttc tactcacia gtgggagttg aacaatgaga acacatggac	780
acagggaggg gaacatcaca caccactgct tgtcaggggg tgggggggcta ggggaaggat	840

ES 2 870 533 T3

agcattagga gaaataccta atgtagatga aggggttgatg ggtgcagcaa accaccatgg	900
catgtgtata cctgtgtaac aaacctccat gttctgcacg tgtatcccag aacttaaagt	960
acaatacaaa aaaaaaaaaa agtgaatcc agtttacatt ttcaaggta aagtgggtac	1020
aatgctatct atcttgggct aagaagagaa aaggaaaaat tcttgcttta aatcttagaa	1080
gtctgggttt tttccctggt ttgtacccca tcc	1113

<210> 317

<211> 1113

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 317

ttcccagttg aggggaaccga tgacctaat cctctcagtt taaatgcaac acaggagcaa	60
attccaaata tctatgctgg tcttgctggg attgcagaac cccagggtgg ttatcctcct	120
ccagaggtaa tctgtgatc agcactaacg ccacatacca gccctttcat cagcttggtg	180
gagaagcatc tttacttccc rccaagcagt gacctagata ccctctcaca ccagttagaa	240
tcaggatcat taaaaagtca agaaaaaaca gatgctgaag aggatgtgga gaaataggaa	300
tgcttttaca ctgttagtgg gaatgtaaat tagttcaacc attgtcaaag acagtgtggc	360
gatccctcac agatctagaa ccagaaatac catttgacct agcaatcca ttactgggtc	420
tatacccaaa ggattataaa ttactctact ataaagacac atgcacacat atgtttattg	480
cagcaccatt cacaatagca aagaattgca accaacccta atgccatca atgacagact	540
ggataaagaa aatctggcac atatacacca tggaatacta cgcagccata aaaaaggatg	600
agtttatgtc ctttacaggg acatggatga agctggaaac catcattctc agcaaactaa	660
cacaggaaca gaaaaccaa ccatgttct cactcacaag tgggagttga acaatgagaa	720
cacatggaca cagggagggg aacatcacac accactgctt gtcagggggg ggggggctag	780
gggaaggata gcattaggag aaatacctaa tgtagatgaa ggggttgatg gtgcagcaaa	840
ccaccatggc atgtgtatac ctgtgtaaca aaacctccatg ttctgcacgt gtatcccaga	900
acttaaagta caatacaaaa aaaaaaaaaa gtgtaatcca gtttacattt tcaagggtcaa	960
agtgggtaca atgctatcta tcttgggcta agaagagaaa aggaaaaatt cttgctttta	1020
atcttagaag tctgggtttt ttccctggtt tgtaccccat cctcttggtc tctctagata	1080
tatttaagac tcacatagga cttgtctttt cta	1113

10

<210> 318

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 318

tcatcaacta aatagttgat gaggggaaat tgttctgtat atgttcatac ttcagctaata	60
caattaaaaa tgatgaaata ataagattac cattttgcaa acccctaata caatgttgga	120
tccaggcaat gatcatcaat ggccactaaa atcacacaaa aggagataac cagaatatgt	180
gctttgtgat ggaagcatta aatacaacta atgagatatt gtttataaga aagaaaggaa	240
gcaagaaagc aatcacacca agctctgtat ctagctacca catttaagga aaaaaagaga	300
cagaagagca tgtaaataatg taccaagaag atacagtcag tcggaaaaaa tacagacaag	360
aaaatacaga gcaaaacaac ccagcttctt cagcaaatca atataaaaaa attttaagaa	420
agagttaaag tataaactga gagacttcag aaacatatta tccaagtata atccatgaat	480
cttgtttaaa tatagatcaa rtaaaccact ataccaaaaa catcaaaaga caactgggta	540
aattttttta atgactagct atttgatgtt aaggaagtaa tgttactctc ttatatacaa	600
tttgaaataa tctagcgagg agcagcaaat gtgaggctat gaggaagaaa cacaattggc	660
cattcttgaa tcattagctg gatggtggct atatgggggt agattttact actctctaata	720
tttacatata tttaaaatgt tccataataa attggtgagt tatcaaaaga aatattttcta	780
tataatagct aaaattattt ataaaagtta gtggtctcat aactttattt atttatttac	840
ttattttgag accgagtctc cctctgttat gcaggctgga gtgcagtggc tccatctcgg	900
ctcaactgcaa acttcacctc ctggattgaa gcgattctcc tgcctcagcc cccccgagta	960
gctgggatta caggcttgca cccccacgcc cagctaattt t	1001

5

<210> 319

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 319

ES 2 870 533 T3

agctaccaca ttttaaggaaa aaaagagaca gaagagcatg tttaatgtta ccaagaagat 60
acagtcagtc ggaaaaaata cagacaagaa aatacagagc aaaacaaccc agcttcttca 120
gcaaatcaat ataaaaaaat ttttaagaaag agttaaagta taaactgaga gacttcagaa 180
acatattatc caagtataat ccatgaatct tgtttaaata tagatcaaata aaaccactat 240
acaaaaaca tcaaaagaca actgggtaaa ttttttaaata gactagctat ttgatgttaa 300
rgaagtaatg ttactctctt atatacaatt tgaaataatc tagcgaggag cagcaaatgt 360
gcggctatga ggaagaaaca caattggcca ttcttgaatc attagctgga tgggtggctat 420
atgggggtag attttactac tctctaattt tacatatatt taaaatgttc cataataaat 480
tgttgagtta tcaaaagaaa tatttctata taatagctaa aattatttat aaaagttagt 540
ggtctcataa ctttatttat ttatttactt attttgagac cgagtctccc tctgttatgc 600
a 601

<210> 320

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 320

ccaactgac taattagata aacttagtca atatatttga atcccacatt ccagcagcta 60
ttttctccat ttgcttttat tgctgtttgt ggtgagtttg atatataatt ttaaggtgtt 120
aacatcccta acttatgtat gggtagagct cataaatacg aacctgtgtc atgcaactca 180
tatatgactg tgttcaaaat aatgtgtatt agactgtaa acgattttta tattttaaat 240
aactttcctg catttgctcg tttcagcagg aaagttattt ttaataactt ccctgtattt 300
sttggtttca gtattaatta atctcattaa tgctaaactt tgtgaccta ggttaaaaaa 360
catattcaag atagcttcag aatgtttggt atacaaatag gtctggctaa atataagtgt 420
tagctttctc aagcatctaa atgctggcgg gcttttaaaa aaccagggct ttaaggagaa 480
aacacctgct ctgtggtttt gtagcagata tgaagtattc aaatttctta ataaatagaa 540
aaagaaatat ataacagaaa caggttgac ttgtctttct cattaagcag gtggttagta 600
c 601

10

<210> 321

<211> 501

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 321

ES 2 870 533 T3

agctcataaa tacgaacctg tgatcatgcaa ctcatatatg actgtgttca aaataatgtg 60
tattagactg taaaacgatt ttaatatattt aaataacttt cctgcatttg tcggtttcag 120
caggaaagtt atttttaata acttccctgt atttgttggg ttcagtatta attaacttca 180
ttaatgctaa actttgtgat cctagggttaa aaaacatatt caagatagct tcagaatgtt 240
tggtatacaa rtaggtctgg ctaaatataa gtgttagctt tctcaagcat ctaaagtctg 300
gcgggctttt aaaaaaccag ggctttaagg agaaaacacc tgctctgtgg tttttagtca 360
gatatgaagt attcaattt cttaataaat agaaaaagaa atatataaca gaaacagggt 420
gcacttgtct ttctcattaa gcaggtgggt agtaccatta tttgcattct catagcctta 480
atatacatatt tcttctctta g 501

<210> 322

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 322

ttttgagttt ctactttagt gtcttagtgc tttctcgata tgggagaatt catgtcctcc 60
attcagaagt atgcactaag taagagggtat catgtctggg tcttgattag gtactaatct 120
tgaaatatta tctacaata ggtagagca cgtatatctc ctgataatat attgaatatg 180
atagatttaa ataattgggt aactaaatac taaagcaaatt tgctgcacgt atcatttatt 240
attcattgtg tagaaagtgc ctgactcagt gtttggaaat tgtctgactt ttcctcatat 300
rtagtgtggg ttcatgttat tgtatataag acctgacatg aactctgttt acaataatct 360
cccagtgcc taaagaccat aataaataat ataaccaatt gggttcttta tgctgtcatt 420
tattagggca tatggcatta gtggaggatt accttgatt acccatagtg cttagagtat 480
gaatcacaca tgcacctga aggaaaagag gtgcaatgta ataagaaacc agatattgaa 540
aatgcaagtt ttgttatggt attctgggta tgtaacctt tttcctgcc ctccatagc 600
a 601

10

<210> 323

<211> 501

<212> ADN

15

<213> Homo sapiens

<400> 323

ES 2 870 533 T3

aagaggatc atgtctggtt cttgattagg tactaatctt gaaatactat cctacagtag	60
gtagagcac gtatatctcc tgataatata ttgaatatga tagatttaaa taattgggta	120
actaaatact aaagcaaatt gctgcacgta tcatttatta ttcattgtgt agaaagtgcc	180
tgactcagtg tttggaaatt gtctgacttt tcctcatata tagtgtggtt tcatgttatt	240
gtatataaga mctgacatga accctgttta caataatctc ccagtgccat aaagaccata	300
ataaataata taaccaattg gtttctttat gctgtcattt attagggcat atggcattag	360
tggaggatta ccttgtatta cccatagtg ttagagtatg aatcacacat gcaccttgaa	420
ggaaaagagg tgcaatgtaa taagaaacca gatattgaaa atgcaagttt tgttatgtta	480
ttctgggtat gttaaccttt a	501

<210> 324

<211> 854

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 324

tttcagcact gagagccaga gtggaattgt ctcttcatt gccactgcct tcacgttttg	60
tgtgtcgtat ctgttttgtg atcactgaga cccaagaacc cccgacttgc cgacatacta	120
tgtggccccg agagaggact tgagctctct gggtttcatc attaccatca attaaataaa	180
caggacagta gcttcttcct tggattgtta atttaaggct ctggataata catgtaaccg	240
ccttatgata gagcagaatt gtaagtaggc tcattgtaga atcgttcaat gacatttccc	300
tttccttttg gagaaacaga aattcacagg tctaattctt ttcctattaa tagttcctgr	360
ccattattcc agaactgtcc taaaggaatt ctttctcctt aaggacacca cctcccagga	420
gggtatttaa agatttgcac aggcggggca cgggtggctca tgcttgtaat ccagcagtt	480
tgggaggcca aggcgggtgg atcacttgtg ctgaggggtt caagaccggc ctggccaaca	540
tggtgaaacc ctatctctac taaaaacaca aaagttagct gggcctggct atgcatgcct	600
gtaattccag ctactcggga ggctgaggct ggagaatagc ttgaaccagg gaggtggaga	660
taacagttag ctgagatgcc actatgacac tccagcctgg gtgacagagc aagactctct	720
ctcaaaaaaa aaaaaagatt tttatagtcc agtattcaac gttcatagta cacctttctt	780
atcctagtaa atcttctttt atcaagggtat atgatcccat atagtagtta actcttactc	840
ttactttatg acaa	854

10

<210> 325

<211> 501

<212> ADN

15 <213> Homo sapiens

ES 2 870 533 T3

<400> 325

aaatacttac	tattaaatat	gagaaactgt	ggtgtttatc	ggtaagatcc	acgaaggaag	60
aagtttttaa	gaaaaatact	ttaaccgtgg	aaaaaaaaa	ctttaatgtc	tattatcgaa	120
taggggccgt	aattactttt	gcaaaataaa	aaaacaaaca	agactagcta	tagtgtaa	180
gtaatctgta	tgctttttta	tgaacaatt	aagtaggttg	cccatttaca	attagcctga	240
ttttctcctg	ygtggtatta	tgtgtactta	acaacaggac	ccagtggaaa	ttcactcatt	300
taacaaagtc	tgccctacatg	gtttcaaata	tgggcctaac	ttgaaaattc	agtcataatt	360
aaatctaagg	actaaaacaa	atctgtataa	aaagattctg	ctaaataagg	gaaaattcaa	420
gtctagggct	acattctgaa	agatattgaa	gtagaacctc	tgacagcaaga	ctaggccttg	480
aaagtgcggg	gaggaggga	a				501

5

<210> 326

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 326

ccacatcaga	aacatgagga	aattctacat	ggtaaaaaca	gcaacaacca	aaaaatactt	60
aaagtcaaca	aaccaggaaa	agacatctct	gaatatagga	atgccaaacc	tttaacacaa	120
taaaacacag	attatatttc	agaaggctat	attatatgtg	tataccaaca	tcaatatgtc	180
cagagtagct	gcacagagtt	ccatatttta	gtctttataa	gttccccctc	tcaccctact	240
cagtaggcac	tttgtgtcta	gaaacttctg	tgtcaacagt	tttccctctc	tctggaattc	300
mtcaggacag	aagtgattgg	tgtggtggaa	gagggttggtg	ctaagagtga	agttatatga	360
aagtaggatg	gagggttagca	agtagttaa	gtccagaaag	gcaataagg	gttaaggaag	420
aacttttcca	ttttacaggt	ctgagcaagc	aggaaatcaa	ctctacaaac	tttgaaactt	480
ggtaaatatg	aaaacattct	caataccatt	tgtcatttaa	taaatacaaa	ttatactatt	540
ttactgcttg	catctagaag	tttgtcaaag	atctcgtctt	aattattcat	tgtgtcggcg	600
a						601

<210> 327

15

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 327

ES 2 870 533 T3

gacgagatct ttgacaaact tctagatgca agcagtaaaa tagtataatt tgtatatttatt 60
aatgacaaa tgggtattgag aatgttttca tatttaccaa gtttcaaagt ttgttagagtt 120
gatttcctgc ttgctcagac ctgtaaaatg gaaaagttct tccttaacac cttattgcct 180
ttctggactt taactacttg ctaacctcca tcctactttc atataacttc actcttagca 240
caaccctctt ccaccacacc aatcacttct gtcctgatga attccagaga gagggaaaac 300
ygttgacaca gaagtttcta gacacaaagt gcctactgag taggggtgagg aggggaactt 360
ataaagacta aaatatggaa ctctgtgcag ctactctgga catattgatg ttggtatata 420
catataatat agccttctga aatataatct gtgttttatt gtgttaaagg tttggcattc 480
ctatatccag agatgtcttt tcctggtttg ttgactttaa gtattttttg gttgttgctg 540
tttttaccat gtagaatttc ctcatgtttc tgatgtggaa agtataagaa tatcagccag 600
a 601

<210> 328

<211> 811

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 328

taaataatct ctaattagta taatgggtgt tcttagtgca gtgggtactt ttaaagtgtc 60
ttgtggcttt tgatgaaaat tgtcttagta tttaaaactt tttcttacc aattttttgt 120
tcccatcgaa ttagcaatgc tgtaaagaaa ggcattctat tccatttttt gttgctataa 180
aggaatactt gaggtgggt aatttataaa gatgaaaagt ttatttggct cgcaattctg 240
gatggctgga aggttaagta ctgggccaca gcatctgtg ggggcctcga gctgcttcta 300
gtcataatgg aaggtgaagg gtgtaaagat catgtgacaa gggaggaaag aagagaagga 360
aggaggtgct ggttctttct atcaaccaat tcgcaagaga actaatagag aaagaactca 420
cttagccctg tgggaacaca ttaatctatt cataagggat ctggctgtat gatacaaaca 480
cctcccattha ggccccacct ccaaattgta tccattggg gatcaaattt caaaaagaga 540
tttgaagga acaacaaac catatctaag ccatagtaaa aggaatggct tttcaaaggt 600
aaaatttact ragtgatta atattttacc aatttccagc caggagagta tgaatgttgc 660
attattacat tgctttgaaa caaagcatta gtcttaattc agaagttaa attcagatgt 720
taacgttgca tatttaataa tgcacaacca gtactaaaat cctcattgaa atgacaaata 780
attttatttc gaatccctta tagaggttca c 811

10

<210> 329

<211> 811

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 329

tgtcttagta tttaaaactt tttcttacct aatTTTTTgt tcccatcgaa ttagcaatgc	60
tgtaaagaaa ggcactctat tccatttttt gttgctataa aggaatactt gaggctgggt	120
aatttataaa gatgaaaagt ttatttggct cgcaattctg gatggctgga aggttaagta	180
ctgggccaca gcatctggtg ggggcctcga gctgcttcta gtcataatgg aaggtgaagg	240
gtgtaaagat catgtgacaa gggaggaaag aagagaagga aggaggtgct ggttctttct	300
atcaaccaat tcgcaagaga actaatagag aaagaactca cttagccctg tggaacaca	360
ttaatctatt cataagggat ctggctgtat gatacaaca cctccatta gggccacct	420
ccaaattgta tccattggg gatcaaattt caaaaagaga tttggaagga acaacaaac	480
catatctaag ccatagtaaa aggaatggct tttcaaaggt aaaatttact aagtgtatta	540
atattttacc aatttccagc caggagagta tgaatgttgc attattacat tgctttgaaa	600
caaagcatta ktcttaattc agaagtttaa attcagatgt taacgttgca tatttaataa	660
tgcaaacca gtactaaaat cctcattgaa atgacaaata attttatttc gaatccctta	720
tagaggttca caatgtttta acaatgtagt tttgactaaa tagaagtagt caaacctgt	780
cagattggaa atagtattta taaaacataa a	811

5

<210> 330

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 330

gctcatcaat tttgacttaa gaaaattcta gcaacattta tagattttgc caaaattcag	60
cttcttccca aatcaatcta taagaaggct cttccttaaa cataattttt atatctatga	120
actgcactag catttactat atattttttat cactctcacc attactggat aataaataaa	180
agctcattaa aagagttaac aaaacatatt tatttttaggc atcctgaaaa aaagattcaa	240
ttttattatc atttctacaa taagtattga agaaaggaga atttaaatta cttcatatac	300
stgataaagg aaaacatatg caaggcaaat aaacatctta gatcatgaca tataaaataa	360
tagattatta ctaaagatta aaatactttc ttaagaatta aagcaattct aaaagcaata	420
gtaaataaca ttctttctag tgatcagaca ctggatacta tgtttgagat agacagtga	480
ttgggaatgt tgttttacag aagctcctac cttgcaagga caggcaagtt taaatgtcag	540
ctagaaaact atcttgagtt ttcagtaatg taagattttc ctattcaatt tcacacttta	600
a	601

ES 2 870 533 T3

<210> 331

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 331

agaaaattct agcaacatth atagattttg ccaaaattca gcttcttccc aaatcaatct	60
ataagaaggc tcttccttaa acataattht tatatctatg aactgcacta gcattttacta	120
tatatthttta tcaactctcac cattactgga taataaataa aagctcatta aaagagttaa	180
caaaacatat ttatttttagg catcctgaaa aaaagattca atthttattat catttctaca	240
ataagtattg aagaaaggag aatttaaatt acttcatata cctgataaag gaaaacatat	300
rcaaggcaaa taaacatctt agatcatgac atataaaata atagattatt actaaagatt	360
aaaatactth cttaagaatt aaagcaattc taaaagcaat agtaaataac attctthtcta	420
gtgatcagac actggatact atgtttgaga tagacagtga attgggaatg ttgtthttaca	480
gaagctccta ccttgcaagg acaggcaagt ttaaatgtca gctagaaaac tatcttgagt	540
thtcagtaat gtaagattth cctattcaat thcacactth aaattthata tatatataaa	600
a	601

<210> 332

10

<211> 1110

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 332

tgtagaagtt cttatcactt cctggcctth tggctaagat caagtgtgaa atgtagaagt	60
tcctctaagc thtactthcc tcaaaaacta gthttatctt gtcagcagga thcactthaaa	120
aagacaaatt cagattatga atthththtct ththttacagg gtctgtctctg ttgcccaggc	180
tggagtgcag aggcaaatc tcggctcact gcagcctccg cctcctgggt tcaagcaatt	240
ctcttgccctc agcctcccga gtaactggga ttacaggcat gtgccaccac ccagctaatt	300
thtgtattht tagtagagat ggggtthcac cacattggtc aggctggtct cgaactgctg	360
gcctcaagtg atccacttg ctcggcctcc caaagtgcag agattacagg tgtgagccac	420
cgtgcccagc ctcataaccg thtcaactac thththcactt gacaagcaga tgtgaagtta	480

15

ES 2 870 533 T3

acaaagtcac ccatatttga aataaagata gtatattcct ggggyaggca gaggcagttg 540
 aggatcatga aataactatg ttggcatagt tatttaggtg ttgatactgt tattatgcca 600
 ttgaaagtta aacagagaac cctctgggta catgttttat accaatgcac actatcctat 660
 tagtcctct cataatgtgc agtcatcatt actgttacgg gttgaggtgt ccccatcctc 720
 tatgggacac ctctatgttg aagtctcaga ttccctagaa tctcagaatg tgaccttgtt 780
 tggaacacaga tttgctacag acgcaattag ttgagatgcg cttatatggg taggtcctaa 840
 ttcagtgact ggtgtcctta aaaaaatgga aatgtacaca cgggtggtaga catgcataga 900
 gggagagag atggagaaaa tggtcaccta caagccaaag acaggggtct ggagcagatc 960
 cttccctcac agccctcaga aggaaccaat cttgccata ccttgatttt ggacttccac 1020
 ctccagaact ataacacatt tctgttcttc aagcaatttg tagccatttg ttacagctaa 1080
 tacaatcaca catagaaatg acttgtaa 1110

<210> 333

<211> 691

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 333

taaaacatgt acccagaggg ttctctgttt aactttcaat ggcataataa cagtatcaac 60
 acctaaataa ctatgccaac atagtatttt catgatcctc aactgcctct gcctacccca 120
 ggaatatact atctttatctt caaatatggg tgactttgtt aacttcacat ctgcttgtca 180
 agtgaaaaag tagttgaaac rgttatgagg ctgggcacgg tggctcacac ctgtaatctc 240
 tgcacttttg gaggccgagg caagtggatc acttgaggcc agcagttoga gaccagcctg 300
 accaatgttg tgaaacccca tctctactaa aaatacaaaa attagctggg tgggtggcaca 360
 tgcctgtaat ccagttact cgggaggctg aggcaagaga attgcttgaa ccagaggaggc 420
 ggaggctgca gtgagccgag attgtgcctc tgcactccag cctgggcaac agagcagacc 480
 ctgtaaaaaa gaaaaaaatt cataatctga atttgtcttt ttaagtgaat cctgctgaca 540
 agataaaact agtttttgag ggaagtaaag cttagaggaa cttctacatt tcacacttga 600
 tcttagccaa aaggccagga agtgataaga acttctacat tttaagttat tcacaagata 660
 actattaatg aacctgaaat agtttgtaaa g 691

10

<210> 334

<211> 640

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

ES 2 870 533 T3

<400> 334

aaaccttttt cctgtttttac tattactaaa ggtggcacaa cagcaacctc aacaactttg	60
caccatgcca aactgatgt ttacaccag cacagcattt ttggtctcta tttttattct	120
cctctgaatg taatgaggat tcctagatgg ctagccaatt cgaatattta aggcaactga	180
aagttagaat gtttctgaaa catagtgttg ttgccagaga gtacgaaagt tttcaagaat	240
atcgggcaat tctgaaagta caaagaagcc agattaaatg aaataaactt ggcgaagttt	300
tagcaaggtg actctcatat aatgatcatt atcattacca cagttaaaag aaaagagttg	360
tttatgaaag gccatgtgtc tgcaatgaaa ctcaaaagag aaaagttaac aggtgcaara	420
ggtagtttta ttataaaagg agggtaggca acaagaatat gtttaatttt tcttcctttt	480
catgagtaag gacaagagtt tcatatatgt gaatatTTTT atttaatttt aagtagaaat	540
ctgtttttaa aatatgggta tatgcttatt tgtgtaagt taagaaacag aagtaagtac	600
agcaaaccag aaataggcca aacactcctg agcataattt	640

5

<210> 335

<211> 919

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 335

tacaccagc acagcatttt tgggtctctat ttttattctc ctctgaatgt aatgaggatt	60
cctagatggc tagccaattc gaatatTTTaa ggcaactgaa agttagaatg tttctgaaac	120
atagtgttgt tgccagagag tacgaaagtt ttcaagaata tcgggcaatt ctgaaagtac	180
aaagaagcca gattaaatga aataaacttg gcgaagtttt agcaaggtga ctctcatata	240
atgatcatta tcattaccac agttaaaga aaagagttgt ttatgaaagg ccatgtgtct	300
gcaatgaaac tcaaaagaga aaagttaaca ggtgcaaaag gtagttttat tataaaagga	360
gggtaggcaa caagaatatg tttaattttt cttccttttc atgagtaagg acaagagtkt	420
catatatgtg aatatTTTta tttaatttta agtagaaatc tgttttttaa atatgggtat	480
atgcttattt gtgtaagtgt aagaaacaga agtaagtaca gcaaaccaga aataggccaa	540
aacctcctga gcataatttt acttggtaga ttattcctga aacttaagga atcatctttg	600
aactcttttc ctcaactgac ttccaggatt caccatgcac ttgtgatttt cctttcattt	660
cactctccgt tctcctcag tctttttttc tccccaggt cttttttgtt catcttaaac	720
tctaaatttt agaatatccc aggggtctgc cttcggcctt ctcttttata tctacactgg	780
cctcatatat aatcttaacc aagtcattat tttaaatacc tacaatatat tgaaaacttc	840
taaatttgta ttttaattct tgacttcttc catacagtct agatttgat gtccataggg	900
tgacatcatt ggctgatac	919

<210> 336

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 336

ttactaaata ttctccaaca aatatatact tagtatatac tattagtgat gcatgctttc	60
aaatatatttg actatatcaa tgaatgaaac aaaaaattat ttgcccttaa ggagcttaga	120
ttctaacaga tggattcaga tgatttttat gccttatttc gtaggtttta aagagcaatg	180
gggaaaaggg aagaagagag ggattgaaaa tattgagaag gttgggagac ttagcaattt	240
taagtaaggt agtgagggtta ggttttattg gcaaagtgat ttttcagcag agactgggaa	300
agatgaacgt ggtatcctgg aggaaagcct cccaggcaga gttaagctgc taacaaaagt	360
gcccttaggc tggagtgggc ttgtttgatt aaggaacaaa gaggtcagca tggttgcact	420
agagagaaaa aatcagatgg cgtaaggaga tgaaatcaga aagatacgag gctaggcaaa	480
ggggtactct atgtaatgaa yatgacctgg cagtactgac atctcctgag ggactgttag	540
aagtgcagac tcttgatctt tttctcaagt ctatgaaatc tagacttcat ttaacaaga	600
tgacccgata ttacatata cattaaagtt ccagaagcac tgatataaca cattgtaaga	660
tcgcacagga cttcaattct tttcttggtt tttagaggca gtcctttggg gtgttttgtg	720
tagagtataa tgacctgaaa tatctaggat cactctagct actatcttga ggaaagagt	780
caataaggcg gaacagttca gaggcaatgg tggctctcta aatgaaagac acacagcact	840
caaaccaggc agttgaggag ggatgggaag aagttgtcaa attctagaca tattttaaag	900
gtagtgtcca gagaatttcc ttagatgcgt aggaacatgg aggataggac atagggtgga	960
aataaacgaa ataaagaaac tgaagctgat tctgacattt t	1001

<210> 337

10

<211> 1576

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 337

ES 2 870 533 T3

ataccctttta agtgacatcc tagtgaatct ccatttgtca cgagacctca agctttccag	60
ttctggcaca aagtgattac tcataccatc acttcaaaat gatgattatc ttcatttatt	120
ttagttatat tgaacaaaat atacatttaa aaaatctaata tactaaatat tctccaacaa	180
atatatactt agtatatact attagtgatg catgctttca aatatttgga ctatatcaat	240
gaatgaaaca aaaaattatt tgcccttaag gagcttagat tctaacagat ggattcagat	300
gattttttatg ccttatttcg taggttttaa agagcaatgg ggaaaaggga agaagagagg	360
gattgaaaat attgagaagg ttgggagact tagcaatttt aagtaaggta gtgagggtag	420
gtttttattgg caaagtgatt tttcagcaga gactgggaaa gatgaacgtg gtatcctgga	480
ggaaagcctc ccaggcagag ttaagctgct aacaaaagtg cccttaggct ggagtgggct	540
tgtttgatta aggaacaaag aggtcagcat gggtgcacta gagagaaaaa atcagatggc	600
gtaaggagat gaaatcagaa agatacgagg ctaggcaaaag gggtagctcta tgtaatgaac	660
atgacctggc agtactgaca tctcctgagg gactgttaga agtgcagact cttgtatctt	720
ttctcaartc tatgaaatct agacttcatt ttaacaagat gacccgatat ttacatacac	780
attaaagttc cagaagcact gatataacac attgtaagat cgcacaggac ttcaattctt	840
tttctggttt ttagaggcag tcctttgggg tgttttgtgt agagtataat gacctgaaat	900
atctaggatc actctagcta ctatcttgag gaaagagtgc aataaggcgg aacagttcag	960
aggcaatggt ggtcttctaa atgaaagaca cacagcactc aaaccaggca gttgaggagg	1020
gatgggaaga agttgtcaaa ttctagacat attttaaagg tagtgtccag agaatttcct	1080
tagatgcgta ggaacatgga ggataggaca taggggtgga ataaacgaaa taaagaaact	1140
gaagctgatt ctgacatttt agacctaaaa tctcaactaa aagttgccaa gatgggaaaa	1200
actagggtgca tcttgtttg tgagtggaaa tcagccttgt gaattaagac ttaaactgat	1260
gtctttaatc ccgtagaaat accatgaagg cagtagaaga tggctaaaga gaggtctaga	1320
ctgtaggtag aaatttaaaa gtcacttgca tttggatgct taaagtcagg atattgtgaa	1380
gtcaacagag gaataaataa atgcagagag gggaaagaaa aggcccatag actgagccat	1440
tgtctggttt atttacatat tagtatatat tttcttaaag atgtttgcta tataataatg	1500
agttacctaa agtgtgactt ttctaaattt atggggaatt ttctacattg tgttatggca	1560
ctactaaaaa taataa	1576

<210> 338

5

<211> 1275

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 338

ES 2 870 533 T3

gtaaaactaa ttataattaa aatcaaaaata tttactgaac ctacttactc ctataaatttg	60
cgttgctgggt taaaaccag ctataaaaat tttgatcaaa aatttttatt ttgtaaatga	120
tctgacacag cataaatggt aatcacattt ctttatttta tttgcagatt aatttgagta	180
atttgaaaaa ttattaatgt tacttaatta ctctcaacac cttacagtgt ctctgtaag	240
cactattgggt gatactgaat ttaagttaca ttttaacaact atcagaaaat agttttttaa	300
gtaaaaatta tgatttggag tttaccaact aaatcttggt agctttcact gcctctattg	360
agaagagcag cagttcttat cttcctcctt tttcttcttt aattaacaag agattatttg	420
tatcatagcc ataaaatcag ttcaggtatt acatgaacga caccctgac tgcaatgggtg	480
tagtttattg tattagcca ttttcatgct gctgataaag acatacataa gactgggtaa	540
tttataaaga aatagaagtt taacggactc acagttccat gtggctgggg aagcctcaca	600
atcatgatcg aaggcaaaag gcacatctta catggcaaca ggcaagagag aatgagagcc	660
aagtgaaag agaaaccct tataaaacct tcagacctca tgagacttat tcactaccac	720
aagaacagta tgtgagaaac agtcccatga tccagttatc tccactggg tccctccac	780
cacacaaggg aattatggga actgcaattc aagatgaaat gtgggtggaa gcacaacgga	840
actatatcat gatcaaagca ttattgtttt ctctgataag ctgatctaga aagtgtgct	900
tgtgatcagc tttggtgacc atgatcagtg aaatgggtta ggaaatctac agattttgta	960
ggtttgtgcc ttgacagacg accggtatct gtttctcttt tcatgatgaa gtatctaaca	1020
aagctctgtc caaaattttg aatttctcgt taaawgcatc atgattatag aacagaggtt	1080
acaatcaatt attcagtcac acaatcactc tcatcagtc ttaaggtgca tacctgggtg	1140
tccagttatt cagtgtggt taacaaacta cctggaactt aatggcttga aatagtcacc	1200
attacattat gattgtccat tctctgcac aataattag atttgcaaa gagggaatgg	1260
tttgtttaca gacag	1275

<210> 339

5

<211> 1275

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 339

ES 2 870 533 T3

gtaaaactaa ttataattaa aatcaaaata tttactgaac ctacttactc ctataatttg	60
cgttgctggt taaaaccag ctataaaaat tttgatcaaa aatttttatt ttgtaaatga	120
tctgacacag cataaatggt aatcacattt ctttatttta tttgcagatt aatttgagta	180
atttgaaaaa ttattaatgt tacttaatta ctctcaacac cttacagtgt ctctgtaag	240
cactattggt gatactgaat ttaagttaca tttacaact atcagaaaat agttttttaa	300
gtaaaaatta tgatttggag tttaccaact aaatcttggt agctttcact gcctctattg	360
agaagagcag cagttcttat cttcctcctt tttcttcttt aattaacaag agattatttg	420
tatcatagcc ataaaatcag ttcaggtatt acatgaacga caccctgac tgcaatggtg	480
tagtttattg tattagtcca ttttcatgct gctgataaag acatacataa gactgggtaa	540
tttataaaga aatagaagtt taacggactc acagttccat gtggctgggg aagcctcaca	600
atcatgatcg aaggcaaaag gcacatctta catggcaaca ggcaagagag aatgagagcc	660
aagtgaaggg agaaaccct tataaaacct tcagacctca tgagacttat tcactaccac	720
aagaacagta tgtgagaaac agtcccatga tccagttatc tccactggg tccctccac	780
cacacaaggg aattatggga actgcaattc aagatgaaat gtgggtggaa gcacaacgga	840
actatatcat gatcaaagca ttattgtttt ctctgataag ctgatctaga aagtgctgct	900
tgtgatcagc tttggtgacc atgatcagtg aaatgggttaa ggaaatctac agattttgta	960
ggtttgtgcc ttgacagacg accggtatct gtttctcttt tcatgatgaa gtatctaaca	1020
aagctctgtc caaaattttg aatttctcgt taaatgcac atgattatag aacagagggt	1080
acaatcaatt attcagtcac acaatcactc tcatcagtc ttaaggtgcr tacctggtgt	1140
tccagttatt cagtgtggta taacaaacta cctggaactt aatggcttga aatagtcacc	1200
attacattat gattgtccat tctctgcac aataattagg atttggcaaa gagggaatgg	1260
tttgtttaca gacag	1275

<210> 340

5

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 340

ES 2 870 533 T3

gaaacaaaaa attgcttttt atatattgat atttttgcac ggattttctta ggatttttcta	60
tgtacatgac catgtcatct gcaaatgaaa tagttttatt tctttatcaa tccggatgaa	120
tttattaaaa ttatcttgcc taatttccca aatagggcct ccatgttgaa cataagtgg	180
ggcaaggggtg atctgttgct aatctcagtg gatgatattc agtgttttac aatgatcttc	240
gacagctctg gctgtttaat tatcatagtc tgtatggcct aaacaaacaa aatacttatg	300
attatggggg aggctgggat atccaagatc aagttgctgg caggtctagc aacctgccac	360
tgggaagccc tgcttccag ttttcagatg gccaccttct tatagtatct tcaccaaga	420
tagggcagag agagcaagca agctctctac cttctcatat aagggcacta atcccacat	480
gaaggcgcca ctgtcatgac stgattatgt cacaagacc ccggggcaaa tattaccact	540
gtgaggagta cagttttagc atgtgaattt tggagaaca caaacattta gtacagagt	600
actattaagt atgttattaa ctatggagtt tttgtaggca ttttttaaca cattgagaaa	660
gtttcctcta ttctacttt tgttgagaag tttttatgat gacaaggcat tacattttat	720
ccaatgactt ttctgtgtgt attgagatga ctgatttgtt ctgccaatat aaatccattg	780
ttgattctct ctaggatttt ttttatttca gttattaaat ttttcaacag gagaattact	840
gtcttgttct tttttttgta atttctgtcc cttactgggt attccatatt taataaggca	900
tcataatagt actcttcttt agtttcttaa agatgggttt ctttagtttt taacatattt	960
atgtctattt agaagtcttt gttaagtctg acatctgagc t	1001

<210> 341

<211> 1001

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 341

ggattttctta ggatttttcta tgtacatgac catgtcatct gcaaatgaaa tagttttatt	60
tctttatcaa tccggatgaa tttattaaaa ttatcttgcc taatttccca aatagggcct	120
ccatgttgaa cataagtggg ggcaaggggtg atctgttgct aatctcagtg gatgatattc	180

ES 2 870 533 T3

agtgttttac aatgatcttc gacagctctg gctgttaaata tatcatagtc tgtatggcct 240
 aaacaaacaa aatacttatg attatggggg aggctgggat atccaagatc aagttgctgg 300
 caggctctagc aacctgccac tgggaagccc tgcttcccag ttttcagatg gccaccttct 360
 tatagtatct tcaccaaaga tagggcagag agagcaagca agctctctac cttctcatat 420
 aagggcacta atcccacat gaaggcgcca ctgtcatgac ctgattatgt cacaagacc 480
 ccggggcaaa tattaccact stgaggagta cagttttagc atgtgaattt tggagaaca 540
 caaacattta gtacagagtg actattaagt atgttattaa ctatggagtt tttgtaggca 600
 ttttttaaca cattgagaaa gtttcctcta ttctactttt tgttgagaag tttttatgat 660
 gacaaggcat tacattttat ccaatgactt ttctgtgtgt attgagatga ctgatttgtt 720
 ctgccaattt aaatccattg ttgattctct ctaggatttt ttttatttca gttattaaat 780
 ttttcaacag gagaattact gtcttgttct tttttttgta atttctgtcc ccttactggt 840
 attccatatt taataaggca tcataatagt actcttcttt agtttcttaa agatggtttt 900
 ctttagtttt taacatattt atgtctattt agaagtcttt gttaagtctg acatctgagc 960
 tctctcaaag tttctgctga tttttttttt cctatgtttg g 1001

<210> 342

<211> 701

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 342

ggaaaccctg gcctcttgat cacactttcc tggagtttag tcccctctgc aatatgtacc 60
 tgggagtcac aagaaatgcc agttacaaaa acttcctgta cagatatcct agcactcaac 120
 tggaaaccgg ggagagtcac aattctgtct ttccagccat atgtaactga aatggagatc 180
 ttttcaccct gagccagggg tgatgggaaa gggagctggt catggctcaa tgtttagcct 240
 tttcttgggc ttcaagattt catagacatt cttaaataca tgtttctttc aatgaagttt 300
 gcccttagga caattcacag ctacattagg tactttttta ataatacttt tgaccatccg 360
 tggttatttc attgaagaaa atctatagag cacctcagcc atcattccag aagtgactat 420
 cctcctcagt aatggttctt attctaattt taaatatcat tgatgtagaa cattctattt 480
 cactattcct tcattttatt rttatgggaa attatataca gttctccaga tttttaagc 540
 cttgctaaca tgttttaagt cacacaaata ttcttctgtg ggaaaatgac agtaatttag 600
 tgtgcaacaa ttatatagaa ctatttttca aacttataaa cgaagtgaaa ttctaaataa 660
 aatcatttat caaacacaaa aatttgagcc agaataagga a 701

10

<210> 343

<211> 701

ES 2 870 533 T3

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 343

aatgccagtt	acaaaaactt	cctgtacaga	tatcctagca	ctcaactgga	aaccggggag	60
agtcacaatt	ctgtctttcc	agccatatgt	aactgaaatg	gagatctttt	caccctgagc	120
caggggtgat	gggaaaggga	gctggtcatg	gctcaatgtt	tagccttttc	ttggtcttca	180
agatttcata	gacattctta	aatacatgtt	tctttcaatg	aagtttgccc	ttaggacaat	240
tcacagctac	attaggtact	ttttaaataa	tacttttgac	catccgtggt	tatttcattg	300
aagaaaatct	atagagcacc	tcagccatca	ttccagaagt	gactatcctc	ctcagtaatg	360
gttcttattc	taattttaaa	tatcattgat	gtagaacatt	ctatttcact	attccttcat	420
tttattatta	tgggaaatta	tatacagttc	tccagatttt	taaagccttg	ctaacatgtt	480
ttaagtcaca	caaataattc	yctgtgggaa	aatgacagta	athtagtggt	caacaattat	540
atagaactat	ttttcaaact	tataaacgaa	gtgaaattct	aaataaaatc	atttatcaaa	600
cacaaaaatt	tgagccagaa	taaggaatgt	aaattacaat	ttaaacacag	attataaact	660
atcttacttt	taaaatgtta	aaattcctaa	cttggttgaa	a		701

5

<210> 344

<211> 768

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 344

ctaaaatcta	ccattatatg	atataccttc	caatacataa	attaaaaaaa	aaaacactgt	60
agaggaaaaa	gcaatatttt	gaaatgatat	gcttttcttt	gtttgtcttc	aaacaattac	120
atcttcatca	taatggttgt	attagtctgt	ttttacactg	ctataaagaa	ttgcctgaga	180
ctgagtaaca	tataaagaaa	aaagttttta	ttgaccacag	tttcacaggc	ttaataggaa	240
gcatgactgg	gaaacttaga	atcatggcag	aagaggaagg	ggaagcaagg	atcttcttca	300
catggtagca	ggagagagag	cacaaagggg	gacacgctac	acactttcaa	acaacgagat	360
ctcctgagaa	ctctatcggg	agaacagcaa	gaggggaagt	caccctatg	attcaatcag	420
ctcccaccgg	gcttctcccc	tgacacatga	ggaattacaa	ttggatgaga	gatttgggtg	480
gggacacaca	gacaaaccat	atcaactgtc	atggacttaa	acaattgtct	ttgaattgtc	540
ttttttcata	cttttatttg	catcttityca	ctaaaaagat	gacacaaagt	aatcctagtt	600
tacatttttt	accatgtaat	tccatattac	tttttcttga	aagttactta	tttttaaatc	660
tcaaagctct	tcatacttat	ggtttgatct	gcacttacaa	ctggatctca	gaaagattga	720
attctcccat	cataccaagt	tcatgtctct	cactcttaat	atttgttc		768

10

ES 2 870 533 T3

<210> 345

<211> 701

<212> ADN

5

<213> Homo sapiens

<400> 345

aaatgatatg cttttctttg tttgtcttca aacaattaca tcttcatcat aatggttgta	60
ttagtctgtt tttaactgc tataaagaat tgcctgagac tgagtaacat ataaagaaaa	120
aagttttaat tgaccacagt ttcacaggct taataggaag catgactggg aaacttagaa	180
tcatggcaga agaggaaggg gaagcaagga tcttcttcac atggtagcag gagagagagc	240
acaaaggggg acacgctaca cactttcaaa caacgagatc tcctgagaac tctatcggga	300
gaacagcaag aggggaagtc acccctatga ttcaatcagc tcccaccggg cttctcccct	360
gacacatgag gaattacaat tggatgagag atttgggtgg ggacacacag acaaaccata	420
tcaactgtca tggacttaaa caattgtctt tgaattgtct tttttcatac ttttatttgc	480
atcttttcac taaaaagatg rcacaaagta atcctagttt acatttttta ccatgtaatt	540
ccatattact ttttcctgaa agttacttat ttttaaactc caaagctctt catacttatg	600
gtttgatctg cacttacaac tggatctcag aaagattgaa ttctcccatc ataccaagtt	660
catgtctctc actcttaata tttgttccca agacaacaat t	701

10

<210> 346

<211> 6758

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 346

ES 2 870 533 T3

agagtgggcc attgttctga ctagtctggg gctccccaaa gaactggtat ctgtctcacc	60
tgactcagaa caatgataag gctgtagatc tttttggaag tctatgaaaa caggcacaat	120
gaaggcagca tgttagagat ataattccac aggaagatgc caggtaaaac aaaagagaaa	180
aagcaggaac aagctgatta ggaaatttgt gatgactaaa agtatatata caagcccaaa	240
taagatactc caaagatggt tgatagggtc tagatctcta gatatactgc tcaatgaaag	300
tgtccccctg aacaaagcca gtctgcaaag actgggtgag atgatttttt ttaaattgtca	360
agtctcagca acaacaaaaa tgacaagaca tgcacagaag caagaaaata taacacaatc	420
aaagaaaaaa aagccacaga aatcagtcct agagaaaacy gatctatgag ctgcctgaca	480
ataattataa aataactatc ataaaaatgc ccagtgagat ataagaaaac acagacaact	540
aatgaatca ggaaaatgat gcatgaacaa aatgggcata tcaacagaga tggaaatgac	600
aaagataaac aaacagaaat tttggagctt aaaaatacag taagtaaagt gaataattca	660
ctaaaaatat tcaatagcag actagatcag gcagaagaaa atatcaatga acttgaagac	720
agatcatcaa gtcagaggaa caacagcaac aaaaaagaat gaaaaaagtg aagacagcct	780
aagggactta ggagtcagta ccaaggaaat caatatatac gttatagatg tatcagaaga	840

ES 2 870 533 T3

aaaagggaga aaaatgaaaa gaaagcatat ttgaaaaaat aatagctgaa gaattctcaa	900
tttcaaagag agaaattgat atacaaattc aagaagttca aaagactcta gccataataa	960
atctaaagag actcacacta agacatatta tcatcaaact gtcaaaatca aagacaaaga	1020
attgtgaaat ctgccaagga aaagtgactc atcacacata agagatataa cataagattg	1080
tcacaggatt tctgaacaga cactttgcag gtcagaggga agtagggtga catattccag	1140
gtgctgaaag aagaaaacac cctgccaacc aagaatatgg catccagaaa aactttccta	1200
gaagaatgaa ggagaaattt agactttccc aaataaaca aagctgaggg agttcattac	1260
taccagacct gctctgcaaa atgctaaaga gaaaccttca ggtgaaacaa aaagatgcta	1320
gacagtaaca caaaaccact cataaataac ttcttcagta aaaataatac atcgacaaat	1380
atggtaacct gtattaatac tgggtgcacaa attcactttc aaattttata aataagaatt	1440
taaaggatga aaacatctaa aactaactat aaatctatat aatgaatata caatatataa	1500
aaaaatttgt gatcacata acataaaatg ggggaggtag agctgtatag gggtagagct	1560
tttgtatgca attgaaatta ccatcagttt aaactgaact gttataacat taagatgttt	1620
tatgtaattg caatggtaac tatattctat agaatatatt aaaaagaaaa agaaaatagg	1680
aagggaatca aagcatgtcc ttgtaaaaaa gtcaatgaaa gcaaaagaaa ggcagaaaga	1740
gtgaaaagga ggaataaaaa gttataagac ataaaaaaa tgaaaatagt aatagtcctg	1800
ccatatcagt aattacatta aatataaatg gattaaactc cctaatacaa tcatagattg	1860
gtttgcaaga actaacttta caattaaaga cacacagctg acggtgaagg gagaaaaaaa	1920
acttccatgc agtgacccaa atagaggagg gtggtgtgat tactgtcaga caaaataaaa	1980
tttaagtcaa aaactgttac aagagtaaaa gaagggcatt atacagttaa aaaagtaaat	2040
tcgccaggca gacacaacaa ttataaatat caatacataa aaataagagc tcctaaatat	2100
atgcagcaaa cagacataat tgaagaaaga aataaatagc taaaatggta gaagacttta	2160
atacccccac ttacaataat gtataaaata acaagacaga atgtaataa aaatgtagag	2220
aatgtgagca aactgttaga ccaattggac ctaataaata tactcagaat aatccatcca	2280
accaaagcag aaacagaata tacattcttt tcaagtacac atttgacatt ctctgggatt	2340
aactacatgt tatgcaacaa acaagtctca acaatgttta aaagtctgat attacacaaa	2400
gtattgtttc tgatgacgat ggaaagaacc tagaagccaa tagcaaaaag aaaatagaaa	2460
atccacacat atgtggaaat taaactacat gcaattaagc aaagggccaa agaagaagaa	2520
gaaaaaagaa aacaccgtga aacaaataaa aacaaaaata cagcatatga aaatgcatgg	2580
gatgcagcaa aagtgatggg aagagaaatg tttatagtta taaatgcaaa ctttaaaaaa	2640
gaagaaagaa aacaaaaata ctcaaattaa caactttaca agtcaagaag gtagagaaaa	2700

ES 2 870 533 T3

aagaacaaac	tataccaaaa	gctaacacag	aaagaaaaga	ataaagatta	aaaacaaaaa	2760
caatttaaaa	aatagcagaa	ctaaaagttg	gttctttgaa	aagatcaaca	gaattgacaa	2820
tttcttagct	acattaagaa	aaatacaaga	ctcaataaac	acaaatcagt	ggtgaaaggg	2880
ggtattataa	ctgatgccac	agaaatacaa	aaggatcata	agggactact	acaaattgta	2940
tgacaacaaa	ttgagtaacc	taggatacct	tgataaattc	caaaaaatgc	acaatatact	3000
gaatcatgaa	tacatgaccc	ttataaatca	agactaaatc	ataaagaaat	agaaaaatc	3060
aacagaccaa	taattagtaa	ggagaataaa	ctagtaatca	gaaacctccc	aacaaagaaa	3120
agcttaggac	caaatggctt	tactggagaa	ttctaccaac	cattaaaagg	ataattaaga	3180
ccaatcttcc	tcaaactttt	aaaacaaatg	ttaaagagga	ggaaactcct	tcaatctcat	3240
tcataaggtc	agcattatcc	ttataccaaa	accagacaaa	gacactatta	aaaaaactta	3300
gaccaatatc	cctgatgaat	ttcgatgcaa	gaatcctcag	caaaatacta	tcaaacaatt	3360
caacagcata	cttaaatgat	tatatgctgt	aatcaagatg	catttattct	ttgaatgcaa	3420
gtgtaattca	acacataaaa	ttcaatcaat	gtaatacacc	acattaacag	aatgagagac	3480
aaaaaccaca	taattatata	aactgatgca	gaaaaaaatc	tgacacagtt	caacaccttt	3540
tgtgataaaa	acactcaaca	aactaggaaa	agaaggaaac	aactttaaca	catcatatgc	3600
tcactgatga	aaatctacaa	gttctttata	aaagatcagg	aacaagacaa	taatctgcat	3660
tgttaccact	tctattatac	gtagtatttg	aagtctaat	cagagcaaat	taggcaagaa	3720
aaataaataa	aaggcatcca	aagtggaaag	gaagtaaaat	aatctctttt	tacagatgat	3780
ataaccttag	aattagaaaa	tcctaaaaat	ttcacatacc	aagaaaaagc	gtgttaaaat	3840
taataagtaa	attcagcaag	ttgactgata	caaaatcaac	acagaaagct	cagttgtgtg	3900
tctgtgtgtc	tcatacacta	acaatgaaca	atctgaaaag	gagattaaga	aaacaatttc	3960
atttacaata	gcatcaggaa	aaaaaataaa	tacttaggaa	caaacttaac	caaggggttg	4020
gaattcctgt	atactgaaaa	ctacaaatat	tgccaaaaga	aaataaagga	gacacaaata	4080
agtgatatgt	ttttaatatg	tccacccaaa	gtgatcttca	gattcaatga	aatccctatc	4140
aaagtataa	tggcattttt	ctgcaggaat	gtaaaaattt	atcctaaaat	tcatatagaa	4200
tctctaggta	ccctgagggc	caaacaattt	tgagaaaaaa	aaaagaacaa	aattggagga	4260
ctcacacttc	cagattacaa	gaatatttac	aaattacata	tttacaaaaa	aaattacaaa	4320
gccacaataa	tcaaaacaac	gtgggatttg	cataaaggca	gatatataga	ccagtggaat	4380
agtattgaga	gtccagaaat	aaacccttag	gtatatcatc	aaatgacatt	tgacaaagtg	4440
ctggtaccac	tcaatgggaa	tgggacaatt	tgttcaacaa	atagagcaaa	gaaaactaaa	4500
catccatgtg	caaaagaata	aatctggacc	cttatattac	actatagaca	aaattaattc	4560
aaaatggatt	aaagatctaa	atgaaagatc	taaaactata	aaactcctag	gagaaaacag	4620

ES 2 870 533 T3

aggaaaaatt tcatgctaatt ttggcaacat tttgtgatgt gacacaaaaa gcagagtcaa	4680
taaaagcaaa aattagacag atggaaatcc atcatagttt ataacttttg gtcattaaag	4740
aacagtcaac agagtgaaaa ggcaatctat aaaatggggg aaaaacagaa aatatgtgca	4800
aatcacagat atctgatagg ggattcatat ccagaataaa taaagaactc ctatatctca	4860
acaacaaaaa atctaatacca atcaaaaaat gggccaaggg agtgaagata cttttctcca	4920
aagatgttat acaaatggcc aggaagcata tgaaaagatg ttcaatgtca ctaatcatca	4980
gagaaatgca aatcaaaacc acagtgcaat atcacttcac attcattaga atggcttctg	5040
tcatgaacaa cagaaaataa caagtgttga tgagtgtgta gagaaattga gacctttata	5100
taattttggc agaaattcaa aatggtgcaa ccactataaa aaatgatatg gaggtcctca	5160
aaaaattaaa aatagaacta ccatatgatc cacaatccca cctctgggta catattcaaa	5220
agaattgaaa gcagggtggt gaagatatat ttgcacactc tttatagcag cactgttcac	5280
aatagccaag agatgaaagt aacccaaagg ttcatgaagc aatgaataaa caaaatatat	5340
tatgtacata gagtaaaata ctgtgcagct ttaaagagaa aggaaatcct atactatgct	5400
acaacatgaa tggaacttta gggcattata gtaagtataa taagccagtt ttttttaaag	5460
gacaaataaa cactatacga ttctacttaa gtattttaatg ttgtcaaatt tataaatata	5520
gaatgtagaa tagtggttac cctgagctgg gggaaagggg caaaggggaa ttgttatttt	5580
aatgggtata gtttcagttc tgcaaaatga aaaggttctg gaaatctgtt tcacaatgtt	5640
gtaaataataa ttactctgaa attgtacact taaaaatggg taagatgaca aatagagttg	5700
tgatgtcttc ttttgttatt atatagaaaa actttttcat atgataatag tctttgtttt	5760
taagctgact ttgctgatat taatataatc cttccatttt tctttaaaat gctatatgct	5820
ttcacataat tttgctttac gttgatgtat ttatacataa ggtgggtttc ttatagatac	5880
cacgttgtgt gtctttttta tctaagttga tagacttgcc ttttgtagg gtatttaaatt	5940
aatttatatt taatgtaatt attgatatag ttgagtgtgt tgatttttgt tttctatttg	6000
ctccatctgt tgttggttct cattattcct ctgtttctac cttcttttgt actaattatt	6060
atattttatt atttttcatc tcaactgttg gcttattagc cacattgctt ttaaaatttt	6120
taatgattgc tctagggttt ataataaaca aaatgttagc attttctacc atcaaatatt	6180
tttacctat tcatgtatac ttcaatttct ttcttcccat cctttgaact atatcttcat	6240
acattttact ctacatttgt tataactcag tgctttgaaa gtcaattatt tttgtctttg	6300
acagtcaatg atttttaaag agtttaacag tgaaaaaaa tggctttcat ctttttccat	6360
tagatttcat actccttctg cctgaagaat ttcttttaat agaccttgta ctgcgggtct	6420
caggcaagaa attctctcag cctttgttgg tttgaaaaac tgcttattac acctttgttt	6480
ttgaaagata ttttactag gtatagaagt ctgggttgac agttctcatt gtttgtcaca	6540
gcatttttaa gatgccatt caattgtctt gtcttgata attttggatt agtctggtgt	6600
atttcttacc tttgttctc tctgtgcaat gcttcaacca tcccacttca ggctgccttt	6660
aagatgtttt cttttccctt aatctttagt ttttagctgg ttgacagtga cgcactaaag	6720
tgtagtgtat gaggttgctt ttattgtcac tgttggtg	6758

<210> 347

<211> 6758

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 347

agagtgggcc attgttctga ctagtctggg gctcccaaaa gaactggtat ctgtctcacc	60
tgactcagaa caatgataag gctgtagatc tttttggaag tctatgaaaa caggcacaat	120
gaaggcagca tgtagagat ataattccac aggaagatgc caggtaaaac aaaagagaaa	180
aagcaggaac aagctgatta ggaaatttgt gatgactaaa agtatatata caagcccaaa	240
taagatactc caaagatgtt tgatagggtc tagatctcta gatatactgc tcaatgaaag	300
tgtcccctg aacaaagcca gtctgcaaag actgggtgag atgatttttt ttaaattgtca	360
agtctcagca acaacaaaaa tgacaagaca tgcacagaag caagaaaata taacacaatc	420
aaagaaaaaa aagccacaga aatcagtcct agagaaaact gatctatgag ctgcctgama	480
ataattataa aataactatc ataaaaatgc ccagtggagat ataagaaaac acagacaact	540
aatgaatca ggaaatgat gcatgaacaa aatgggcata tcaacagaga tggaaatgac	600
aaagataaac aaacagaaat tttggagctt aaaaatacag taagtaaagt gaataattca	660
ctaaaaatat tcaatagcag actagatcag gcagaagaaa atatcaatga acttgaagac	720
agatcatcaa gtcagaggaa caacagcaac aaaaaagaat gaaaaaagtg aagacagcct	780
aagggactta ggagtcagta ccaaggaaat caatatatac gttatagatg tatcagaaga	840
aaaagggaga aaaatgaaaa gaaagcatat ttgaaaaaat aatagctgaa gaattctcaa	900
tttcaaagag agaaattgat atacaaattc aagaagttca aaagactcta gccataataa	960
atctaaagag actcactacta agacatatta tcatcaaact gtcaaaatca aagacaaaga	1020
attgtgaaat ctgccaaagga aaagtgactc atcacacata agagatataa cataagattg	1080
tcacaggatt tctgaacaga cactttgcag gtcagaggga agtagggtga catattccag	1140
gtgctgaaag aagaaaacac cctgccaaac aagaatatgg catccagaaa aactttccta	1200
gaagaatgaa ggagaaatth agactttccc aaataaacia aagctgaggg agttcattac	1260
taccagacct gctctgcaaa atgctaaaga gaaaccttca ggtgaaacia aaagatgcta	1320
gacagtaaca caaaaccact cataaataac ttcttcagta aaaataatac atcgacaaat	1380

ES 2 870 533 T3

atggtaacct	gtattaatac	tgggtgcacaa	attcactttc	aaattttata	aataagaatt	1440
taaaggatga	aaacatctaa	aactaactat	aatctatat	aatgaatata	caatatataa	1500
aaaaatttgt	gatcacaaata	acataaaatg	ggggaggtag	agctgtatag	gggtagagct	1560
tttgtatgca	attgaaatta	ccatcagttt	aaactgaact	gttataacat	taagatgttt	1620
tatgtaattg	caatggtaac	tatatcttat	agaatatatt	aaaaagaaaa	agaaaatagg	1680
aagggaatca	aagcatgtcc	ttgtaaaaaa	gtcaatgaaa	gcaaaagaaa	ggcagaaaga	1740
gtgaaaagga	ggaataaaaa	gttataagac	ataaaaaaaa	tgaaaatagt	aatagtccctg	1800
ccatatcagt	aattacatta	aatataaatg	gattaaactc	cctaatacaa	tcatagattg	1860
gtttgcaaga	actaacttta	caattaaaga	cacacagctg	acgggtgaagg	gagaaaaaaa	1920
acttccatgc	agtgaccaa	atagaggagg	gtggctgtat	tactgtcaga	caaaataaaa	1980
tttaagtcaa	aaactgttac	aagagtaaaa	gaagggcatt	atacagttaa	aaaagtaaat	2040
tcgccaggca	gacacaacaa	ttataaatat	caatacataa	aaataagagc	tcctaaatat	2100
atgcagcaaa	cagacataat	tgaagaaaga	aataaatagc	taaaatggta	gaagacttta	2160
atacccccac	ttacaataat	gtataaaata	acaagacaga	atgtaaataa	aatgtagag	2220
aatttgagca	acactgtaga	ccaattggac	ctaataaata	tactcagaat	aatccatcca	2280
accaaagcag	aaacagaata	tacattcttt	tcaagtacac	atttgacatt	ctctgggatt	2340
aactacatgt	tatgcaacaa	acaagtctca	acaatgttta	aaagtctgat	attacacaaa	2400
gtattgtttc	tgatgacgat	ggaaagaacc	tagaagccaa	tagcaaaaag	aaaatagaaa	2460
atccacacat	atgtggaaat	taaactacat	gcaattaagc	aaagggccaa	agaagaagaa	2520
gaaaaaagaa	aacaccgtga	aacaaataaa	aacaaaaata	cagcatatga	aatgcatgg	2580
gatgcagcaa	aagtgatggt	aagagaaatg	tttatagtta	taaatgcaaa	ccttaaaaaa	2640
gaagaaagaa	aacaaaaata	ctcaaattaa	caactttaca	agtcaagaag	gtagagaaaa	2700
aagaacaaac	tataccaaaa	gctaacacag	aaagaaaaga	ataaagatta	aaaacaaaaa	2760
caatttaaaa	aatagcagaa	ctaaaagttg	gttctttgaa	aagatcaaca	gaattgacaa	2820
tttcttagct	acattaagaa	aatacaaga	ctcaaataac	acaaatcagt	ggtgaaaggg	2880
ggtattataa	ctgatgccac	agaaatacaa	aaggatcata	agggactact	acaaattgta	2940
tgacaacaaa	ttgagtaacc	taggatacct	tgataaattc	caaaaaatgc	acaatatact	3000
gaatcatgaa	tacatgaccc	ttataaatca	agactaaatc	ataaagaaat	agaaaatatc	3060
aacagaccaa	taattagtaa	ggagaataaa	ctagtaatca	gaaacctccc	aacaaagaaa	3120
agcttaggac	caaatggctt	tactggagaa	ttctaccaac	cattaaaagg	ataattaaga	3180
ccaatcttcc	tcaaactttt	aaaacaaatg	ttaaagagga	ggaaactcct	tcaatctcat	3240
tcataaggtc	agcattatcc	ttataccaaa	accagacaaa	gacactatta	aaaaaactta	3300

ES 2 870 533 T3

gaccaatatc cctgatgaat ttcgatgcaa gaatcctcag caaaatacta tcaaacaatt	3360
caacagcata cttaaatgat tatatgctgt aatcaagatg catttattct ttgaatgcaa	3420
gtgtaattca acacataaaa ttcaatcaat gtaatacacc acattaacag aatgagagac	3480
aaaaaccaca taattatatc aactgatgca gaaaaaaatc tgacacagtt caacaccttt	3540
tgtgataaaa acactcaaca aactaggaaa agaaggaaac aactttaaca catcatatgc	3600
tcactgatga aaatctacaa gttctttata aaagatcagg aacaagacaa taatctgcat	3660
tgttaccact tctattatac gtagtattgg aagttctaata cagagcaaata taggcaagaa	3720
aaataaataa aaggcatcca aagtggaaaag gaagtaaaat aatctctttt tacagatgat	3780
ataaccttag aattagaaaa tcctaaaaat ttcacatacc aagaaaaagc gtgttaaaat	3840
taataagtaa attcagcaag ttgactgata caaaaatcaac acagaaagct cagttgtgtg	3900
tctgtgtgtc tcatacacta acaatgaaca atctgaaaag gagattaaga aaacaatttc	3960
atttacaata gcatcaggaa aaaaaataaa tacttaggaa caaacttaac caaggggttg	4020
gaattcctgt atactgaaaa ctacaaatat tgccaaaaga aaataaagga gacacaaata	4080
agtgatatgt ttttaatatg tccacccaaa gtgatcttca gattcaatga aatccctatc	4140
aaagttataa tggcattttt ctgcaggaat gtaaaaattt atcctaaaat tcatatagaa	4200
tctctaggtg ccctgagggc caaacaattt tgagaaaaaa aaaagaacaa aattggagga	4260
ctcacacttc cagattacaa gaatatttac aaattacata tttacaaaaa aaattacaaa	4320
gccacaataa tcaaaacaac gtgggatttg cataaaggca gatatataga ccagtggaat	4380
agtattgaga gtccagaaat aaacccttag gtatatcatc aaatgacatt tgacaaagtg	4440
ctggtaccac tcaatgggaa tgggacaatt tgttcaacaa atagagcaaa gaaaactaaa	4500
catccatgtg caaaagaata aatctggacc cttatattac actatagaca aaattaattc	4560
aaaatggatt aaagatctaa atgaaagatc taaaactata aaactcctag gagaaaacag	4620
aggaaaaatt tcatgctaata ttggcaacat tttgtgatgt gacacaaaaa gcagagtcaa	4680
taaaagcaaa aattagacag atggaaatcc atcatagttt ataacttttg gtcattaaag	4740
aacagtcaac agagtgaaaa ggcaatctat aaaatggggg aaaaacagaa aatatgtgca	4800
aatcacagat atctgatagg ggattcatat ccagaataaa taaagaactc ctatatctca	4860
acaacaaaaa atctaatacca atcaaaaaat gggccaaggg agtgaagata catttctcca	4920
aagatgttat acaaatggcc aggaagcata tgaaaagatg ttcaatgtca ctaatcatca	4980
gagaaatgca aatcaaaacc acagtgcaat atcacttcac attcattaga atggcttctg	5040
tcatgaacaa cagaaaataa caagtgttga tgagtgtgta gagaaattga gacctttata	5100
taattttggc agaaattcaa aatggtgcaa ccactataaa aaatgatatg gaggtcctca	5160

ES 2 870 533 T3

aaaaattaaa aatagaacta ccatatgatc cacaatccca cctctgggta catattcaaa 5220
 agaattgaaa gcagggtggt gaagatatat ttgcacactc tttatagcag cactgttcac 5280
 aatagccaag agatgaaagt aacccaaagg ttcataagc aatgaataaa caaaatatat 5340
 tatgtacata gagtaaaata ctgtgcagct ttaaagagaa aggaaatcct atactatgct 5400
 acaacatgaa tggaacttta gggcattata gtaagtaaaa taagccagtt ttttttaaag 5460
 gacaaataaa cactatacga ttctacttaa gtatttaatg ttgtcaaatt tataaatata 5520
 gaatgtagaa tagtggttac cctgagctgg gggaaagggg caaaggggaa ttgttatttt 5580
 aatgggtata gtttcagttc tgcaaatga aaaggttctg gaaatctgtt tcacaatggt 5640
 gtaaatataa ttactctgaa attgtacact taaaatggt taagatgaca aatagagttg 5700
 tgatgtcttc ttttggtatt atataaaaa actttttcat atgataatag tctttgtttt 5760
 taagctgact ttgctgatat taatataatc cttccatttt tctttaaaat gctatatgct 5820
 ttcacataat tttgctttac gttgatgtat ttatacataa ggtgggtttc ttatagatac 5880
 cacgttgtgt gtctttttta tctaagttga tagacttgcc ttttgttagg gtattttaat 5940
 aatttatatt taatgtaatt attgatatag ttgagtggtg tgatttttgt tttctatttg 6000
 ctccatctgt tgttggttct cattattcct ctgtttctac cttcttttgt actaattatt 6060
 atattttatt atttttcatc tcaactgttg gcttattagc cacattgctt ttaaaatttt 6120
 taatgattgc tctagggttt ataataaaca aaatgtagc attttctacc atcaaattatt 6180
 tttacactat tcatgtatac ttcaatttct ttcttcccat cctttgaact atatcttcat 6240
 acattttact ctacatttgt tataactcag tgctttgaaa gtcaattatt tttgtctttg 6300
 acagtcaatg attttttaaag agtttaacag tgaaaaaaa tggctttcat ctttttccat 6360
 tagatttcat actccttctg cctgaagaat ttcttttaat agaccttgta ctgcgggtct 6420
 caggcaagaa attctctcag cctttgttgg tttgaaaaac tgcttattac acctttgttt 6480
 ttgaaagata ttttactag gtatagaagt ctgggttgac agttctcatt gtttgtcaca 6540
 gcatttttaa gatgccatt caattgtctt gtcttgata attttgatt agtctggtgt 6600
 atttcttacc tttgttctc tctgtgcaat gcttcaacca tcccacttca ggctgccttt 6660
 aagatgtttt cttttccctt aatctttagt ttttagctgg ttgacagtga cgcatctaag 6720
 tgtagtgtat gaggttgctt ttattgtcac tgttggtg 6758

<210> 348

<211> 501

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 348

gaccatgtta tgacatttta gtgcttgcta agcagtaaact actgacttac tttcctgcta 60

ES 2 870 533 T3

cactcttcag agcagaaaga gaaatctaca aaaagggcaa tgtagttggg atccaccaca 120
gccttgagac tgggccatgt ttctacagct taccacatt ttaccccccac tttctctgag 180
aaacaatgca aactggagaa caaggtcaga gaagttatct tggatggtag aagagaagaa 240
aggagaagaa rggataagca gaaaatcaaa aagggcataa aaaaattact ggggaaaata 300
attcttagtc actcaccatt tcttatgttt gtgaaaacag aaacgaggag caagtgttgt 360
tgtaagaatt gttcttgccc ctccccctcc accaccaca tctgtcaagc tatccctgtt 420
tcactgtttc ctctgcactc tctattaact tctttgtcct cctcttttct tttcctacag 480
caaagacttt ttgtcatgtt t 501

<210> 349

<211> 501

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 349

tgacttactt tcttgctaca ctcttcagag cagaaagaga aatctacaaa aagggcaatg 60
tagttgggat ccaccacagc cttgagactg ggccatgttt ctacagctta cccacatttt 120
acccccactt tctctgagaa acaatgcaaa ctggagaaca aggtcagaga agttatcttg 180
gatggtagaa gagaagaaag gagaagaaag gataagcaga aaatcaaaaa gggcataaaa 240
aaattactgg rgaaaataat tcttagtcac tcaccatttc ttatgtttgt gaaaacagaa 300
acgaggagca agtgttgttg taagaattgt tcttgcccct ccccctccac caccacatc 360
tgtcaagcta tccctgtttc actgtttcct ctgcactctc tattaacttc tttgtcctcc 420
tcttttcttt tctacagca aagacttttt gtcattgttt gtttcttttt ctattgtttc 480
tttccctttt ctaatccttg a 501

10

<210> 350

<211> 1148

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 350

ES 2 870 533 T3

tatgagattt aatgttaaga aataaaatgt aggatctaaa acgtaatcta tagcataatc	60
tcaaaaatgg tttagaaatg acataataat acagacattt gtgggtggta ggattatgca	120
tatTTTTata tattttttaa tataTTTTtc aaaagcttcc tataaagaat gtaattcttt	180
cccaattcca aatctagctt aaacataatt ttacaaaaat tattctctca gaatgtaaac	240
tagtaccacc tctatggaaa acattatgga gatttcctaa agagttaaaa gtagatctac	300
catttgatcc agcaatctta atactgggta tctacccgga ggaaaagaag tcattgtatg	360
aaaaagacac ttgtacacat atgtttacag gaccacaatt cacaaatgca aagatgcaga	420
accaacctaa gtggccastg actaatgaga ggataaagaa gatgtggcat atatatatca	480
gggactacta ctcagccatt acaaggaaca aaataatgtc ttttgcaaca acttg gatag	540
agctggaggc cattattcta agtaaagtaa ttcaggaatt ggaaaaccaa aaaccgtatg	600
ttctctctta taagtgggaa ctaagttagg aataagcaaa ggcacacaga gggacatatt	660
ggactttaga gactcacgag gaggagggtta ataggggact agggattaaa agaaaaacta	720
gacattaggt acaaggtacc ctacttaagt gcactaaaat ctcagaattc accactacgt	780
aattcaacta agtaacaaga aaccacttgt accccaaaag ctactgaaat aaaaattatt	840
ctctcaaaaa ttttaagccc taaacttcag ttcctattgt ttatatTTac taagaaaaac	900
aacagaaaac actgttttaa aaatggtgga tttttttaag gttaaaggta tataagacag	960
ctgcctaagg aaacgcagat acccctgtac cttgttggtg ttgttgTTTT tcactTTTTt	1020
aaaaaacata gagatgggat ctccttatgc tgcccaggct tgtctcaaac tcctgagctc	1080
aagcaatcct ctgacctcag actctcaaag ttttgggact acaggcgaca gtcaccatgc	1140
cagccaat	1148

<210> 351

5

<211> 1148

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 351

ES 2 870 533 T3

tatgagattt aatgttaaga aataaaatgt aggatctaaa acgtaatcta tagcataatc	60
tcaaaaatgg tttagaaatg acataataat acagacattt gtgggtggta ggattatgca	120
tatTTTTata tattttttaa tataTTTTtc aaaagcttcc tataaagaat gtaattcttt	180
cccaattcca aatctagctt aaacataatt ttacaaaaat tattctctca gaatgtaac	240
tagtaccacc tctatggaaa acattatgga gatttcctaa agagttaaaa gtagatctac	300
catttgatcc agcaatctta atactgggta tctaccgga ggaaaagaag tcattgtatg	360
aaaaagacac ttgtacacat atgtttacag gaccacaatt cacaaatgca aagatgcaga	420
accaacctaa gtggccactg actaatgaga ggataaagaa gatgtggcat atatayatca	480
gggactacta ctcagccatt acaaggaaca aaataatgtc ttttgcaaca acttggatag	540
agctggaggc cattattcta agtaaagtaa ttcaggaatt ggaaaaccaa aaaccgtatg	600
ttctctctta taagtgggaa ctaagttagg aataagcaaa ggcacacaga gggacatatt	660
ggactttaga gactcacgag gaggagggtat ataggggact agggattaaa agaaaaacta	720
gacattaggt acaagggtacc ctacttaagt gcactaaaat ctcagaattc accactacgt	780
aattcaacta agtaacaaga aaccacttgt accccaaaag ctactgaaat aaaaattatt	840
ctctcaaaaa ttttaagccc taaacttcag ttcctattgt ttatatTTac taagaaaaac	900
aacagaaaac actgttttaa aaatggtgga tttttttaag gttaaaggta tataagacag	960
ctgcctaagg aaacgcagat acccctgtac cttgttggtg ttgttgTTTT tcactTTTTt	1020
aaaaaacata gagatgggat ctccttatgc tgcccaggct tgtctcaaac tcctgagctc	1080
aagcaatcct ctgacctcag actctcaaag ttttgggact acaggcgaca gtcaccatgc	1140
cagccaat	1148

<210> 352

5

<211> 1148

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 352

ES 2 870 533 T3

tatgagattt aatgttaaga aataaaatgt aggatctaaa acgtaatcta tagcataatc	60
tcaaaaatgg tttagaaatg acataataat acagacattt gtgggtggta ggattatgca	120
tatTTTTata tattttttaa tataTTTTtc aaaagcttcc tataaagaat gtaattcttt	180
cccaattcca aatctagctt aaacataatt ttacaaaaat tattctctca gaatgtaac	240
tagtaccacc tctatggaaa acattatgga gatttcctaa agagttaaaa gtagatctac	300
catttgatcc agcaatctta atactgggta tctacccgga ggaaaagaag tcattgtatg	360
aaaaagacac ttgtacacat atgtttacag gaccacaatt cacaaatgca aagatgcaga	420
accaacctaa gtggccactg actaatgaga ggataaagaa gatgtggcat atatayatca	480
gggactacta ctcagccatt acaaggaaca aaataatgtc ttttgcaaca acttggatag	540
agctggaggc cattattcta agtaaagtaa ttcaggaatt ggaaaaccaa aaaccgtatg	600
ttctctctta taagtgggaa ctaagttagg aataagcaaa ggcacacaga gggacatatt	660
ggactttaga gactcacgag gaggagggta ataggggact agggattaaa agaaaaacta	720
gacattaggt acaaggtacc ctacttaagt gcactaaaat ctcagaattc accactacgt	780
aattcaacta agtaacaaga aaccacttgt accccaaaag ctactgaaat aaaaattatt	840
ctctcaaaaa ttttaagccc taaacttcag ttcctattgt ttatatTTac taagaaaaac	900
aacagaaaac actgttttaa aaatggtgga tttttttaag gttaaaggta tataagacag	960
ctgcctaagg aaacgcagat acccctgtac cttgttggtg ttgttgTTTT tcaactTTTT	1020
aaaaaacata gagatgggat ctcttatgc tgcccaggct tgtctcaaac tcctgagctc	1080
aagcaatcct ctgacctcag actctcaaag ttttgggact acaggcgaca gtcaccatgc	1140
cagccaat	1148

<210> 353

<211> 1148

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 353

ES 2 870 533 T3

tatgagattt aatgttaaga aataaaatgt aggatctaaa acgtaatcta tagcataatc	60
tcaaaaatgg tttagaaatg acataataat acagacattt gtgggtggta ggattatgca	120
tatTTTTata tattttttaa tataTTTTtc aaaagcttcc tataaagaat gtaattcttt	180
cccaattcca aatctagctt aaacataatt ttacaaaaat tattctctca gaatgtaaac	240
tagtaccacc tctatggaaa acattatgga gatttcctaa agagttaaaa gtagatctac	300
catttgatcc agcaatctta atactgggta tctacccgga ggaaaagaag tcattgtatg	360
aaaaagacac ttgtacacat atgtttacag gaccacaatt cacaaatgca aagatgcaga	420
accaacctaa gtggccactg actaatgaga ggataaagaa gatgtggcat atatatatca	480
gggactactr ctcagccatt acaaggaaca aaataatgtc ttttgcaaca acttggatag	540
agctggaggc cattattcta agtaaagtaa ttcaggaatt ggaaaaccaa aaaccgtatg	600
ttctctctta taagtgggaa ctaagttagg aataagcaaa ggcacacaga gggacatatt	660
ggactttaga gactcacgag gaggagggtg ataggggact agggattaaa agaaaaacta	720
gacattaggt acaaggtacc ctacttaagt gcactaaaat ctcagaattc accactacgt	780
aattcaacta agtaacaaga aaccacttgt accccaaaag ctactgaaat aaaaattatt	840
ctctcaaaaa ttttaagccc taaacttcag ttcctattgt ttatatTTac taagaaaaac	900
aacagaaaac actgttttaa aaatggtgga tttttttaag gttaaaggta tataagacag	960
ctgcctaagg aaacgcagat acccctgtac cttgttggtg ttgttgTTTT tcaactTTTT	1020
aaaaaacata gagatgggat ctcttatgc tgcccaggct tgtctcaaac tcctgagctc	1080
aagcaatcct ctgacctcag actctcaaag ttttgggact acaggcgaca gtcaccatgc	1140
cagccaat	1148

<210> 354

<211> 611

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 354

caaaacctca accttccaga taagtctaag ggtgagaact tcacacaaga tgaataagaa	60
ccaattttctt ccagggcgat gttgaacctg gaaatgaaag ccaatctctc ttggaaggcc	120
tggtttgtag aaatgtcagt ctttgtttca agctgtggga gaatgagaag caagacttta	180
gggaaagagg aataaaatag atgtgcagaa ataacagagt gagaaagtct tcagggtgtc	240
gctagcccta attgcaggca tccctgaatc ctagaccttg gattgcaaga gactccttaa	300
tatcttccca tgtccacatt tgcttcacat agtttgaatg tggcttctat tatatacaga	360
tacaagattc aaatccaacc tctaygatga ctggtcttgt gaataagcag aagaggcact	420
aacaatatga cgtgagggat tcagggaaga gcactttctt gagcacatat cttccctggt	480

ES 2 870 533 T3

ctgccagctg tagtttatga aattccacaa tgaggatgaa atggaatcac catttacaga 540
gtactctcca gatgtctaac cctaagctag gtaccttcaa aatattatct agttagata 600
atcaaccctt t 611

<210> 355

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 355

ttctctagtc caaaggggtg attatctaaa ctagataata ttttgaaggt acctagctta 60
gggtagaca tctggagagt actctgtaaa tggatgattcc atttcacccct cattgtggaa 120
tttcataaac tacagctggc agaccaggga agatatgtgc tcaagaaagt gctcttcctt 180
gaatccctca cgtcatattg ttagtgcttc ttctgcttat tcacaagacc agtcatacata 240
gaggttggat ttgaatcttg tatctgtata taatagaagc cacattcaaa ctatgtgaag 300
yaaatgtgga catgggaaga tattaaggag tctcttgcaa tccaaggtct aggattcagg 360
gatgcctgca attagggcta gcgacaccct gaagactttc tcaactctgtt atttctgcac 420
atctatttta ttctcttttc cctaaagtct tgcttctcat tctcccacag cttgaaacaa 480
agactgacat ttctacaaac caggccttcc aagagagatt ggctttcatt tccaggttca 540
acatcgccct ggaagaaatt ggttcttatt catcttgtgt gaagttctca cccttagact 600
t 601

10

<210> 356

<211> 527

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 356

ES 2 870 533 T3

gctctagaat atggcattcc agaagtggga tgctacaaat agtctcattg agagtcaact	60
tgcacaatgt atcgtcctac ccttacatca atttctgaaa caacttctct ttgcacttcc	120
cctatagtta catgcataat aaattctgac aactcttatg aagtcatgga ataactttct	180
tcttatgttt cctatcaatg tcattagccc tttatcttgt ttgagtttcc atcagcaatg	240
ttttcaagtc ccaagatcat tcatgtatcc acaagcaatg atacgccaga tttggacaaa	300
taatactgaa tactatctta ttttcaactgc catgatcaag gcagtgtgga ttgctgcaa	360
gtccaagaga agtgaggtca gcagctgcaa gccacctccg tcatttagaa aagcttcatg	420
atgtagtgtg tcgtttcgat gtgacactgt ctcacagagt taaaatgatg tgmaaggaac	480
tgttcaatgg aaatttagaa atttctcttt ttctcaattt tagtgta	527

<210> 357

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 357

gaacaagatt ttcctgcttt taaaaatact acattaaagc tgaaaattta ggccaaaatt	60
ttcaagtggg aatagttaca ggcaattcat ctttctggtc agaaaagggg gttactgcag	120
ctatttctgc ctgaaactgg gtggcactac tacttttttt tttttttttt taactgagca	180
gacattttcc ttacactaaa attgagaaaa agagaaattt cttaaatttcc attgaacagt	240
tccttgcaca tcattttaac tctgtgagac agtgtcacat cgaaacgaca cactacatca	300
ygaagctttt ctaaagtacg gaggtggcct gcagctgctg acctcacttc tcttggactt	360
ggcagcaatc cacactgcct tgatcatggc agtgaaaata agatagtatt cagtattatt	420
tgtccaaatc tggcgtatca ttgcttgtgg atacatgaat gatcttggga cttgaaaaca	480
ttgctgatgg aaactcaaac aagataaagg gctaatagaca ttgataggaa acataagaag	540
aaagttattc catgacttca taagagttgt cagaatttat tatgcatgta actacagggg	600
a	601

10

<210> 358

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 358

ES 2 870 533 T3

gcttaataacc tgagtgatgg aatattctgt tcaacaaacc cctctgacat aggtttgcct	60
atataataaaa cctgttcatg tactcctgaa cctaaaagtt taaaaaagat tatgtagaaa	120
acccaaagga atctataaaa agtctactag agctagagtg attttaacaa gatttcaata	180
cacaaattca aatgtctttc tatatattaa tgacaatcaa caataaaatt ttaaaacatt	240
attaaagtat aatgaaaata tcaactgttt agggagaaat gtaacaagaa tggatgaagga	300
cctatacact aaaaagcttc aatatgttgt tgagattaac tgaagaaggt ctaaatagat	360
ttttttttca tgtctcggaa gacttaatat gtgaagatac caattcttcc ccaaattgatc	420
aacagggtgaa atgcaatccc aatcaaaatc ccagcaatta ttttaagggg gaaattggca	480
atctgattct aaaattcata yggaaaaaaa caatggagt tgaataacta aaacaagtcc	540
gaaaaagaaa aagaaatgga ggactaatgc tacctgattt caagtcttat cgtataaatc	600
tacatcaata aaggacaagt tggatattggg ttaaagatag ataaatacat cagtggaata	660
gaatattgaa tccagaataa atccacacat atatggataa aaataccaga caattcagt	720
gagatgggtt tgtttttaca acaaatgtta ctggaacaaa ttgatatatg tatttagtcag	780
atatggctgc cataacaaag aaccacaaac aggtgggtta aataatggaa ataaatttcc	840
tcagaattct ggagtatgga agccaagat caagttgctg ggaggattcg tttcttctga	900
gtgtctcttt ttttgatgac agatgactat cttttaccaa tgtcttcact tggttttccc	960
tctgtgtgtg cctaggtcct attctccaat tcctataagg a	1001

<210> 359

5

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 359

ES 2 870 533 T3

ctaaaagttt aaaaaagatt atgtagaaaa cccaaaggaa tctataaaaa gtctactaga	60
gctagagtga ttttaacaag atttcaatac acaaattcaa atgtctttct atatattaat	120
gacaatcaac aataaaatth taaaacatta ttaaagtata atgaaaatat caactgttta	180
gggagaaatg taacaagaat ggtgaaggac ctatacacta aaaagcttca atagtgtgtt	240
gagattaact gaagaaggtc taaatagatt tttttttcat gtctcgaag acttaatatg	300
tgaagatacc aattcttccc caaatgatca acaggtgaaa tgcaatccca atcaaaatcc	360
cagcaattat ttttaagggg aaattggcaa tctgattcta aaattcatat ggaaaaaac	420
aatggagtta gaataactaa aacaagtcg aaaaagaaaa agaaatggag gactaatgct	480
acctgatttc aagtcttacc rtataaatct acatcaataa aggacaagtt ggtattgggt	540
taaagataga taaatacatc agtgaatag aatattgaat ccagaataaa tccacacata	600
tatggataaa aataccagac aattcagtg agatggtttt gtttttaca caaatgttac	660
tgaacaaat tgatatatgt attagtcaga tatggctgcc ataacaaaga accacaaaca	720
ggtggtttaa ataatggaaa taaatttcct cagaattctg gagtatggaa gcccaagatc	780
aagttgctgg gaggattcgt ttcttctgag tgtctctttt tttgatgaca gatgactatc	840
ttttaccaat gtcttcactt ggttttcct ctgtgtgtgc ctaggtccta ttctccaatt	900
cctataagga aaccagtcatt attggattag ggccactct aatggcccca ttttacttgc	960
attatctctt taaagacact atctccagat gtagccacac t	1001

<210> 360

<211> 1058

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 360

catgattagc tatgctactt tccactgctc ttagtatact gagaggcagc ataagtaaaa	60
ctaaaatata tgaagatagc aatagactat ttaaagtaga agaagtatgc tatttttggt	120
ttgttttcat ttgaaggaa atatgcaaag gtttattgag tatttcagct tctcttacag	180
taggtttttt ttggattctt tctgtgtttg tctatgttga taaaacattg aaatgccata	240
tagctcaaag gtcattcact taagaaatct aagtactgat aacatcttag ccccgattct	300
tcataggcat tgtaagcct attataatth tggtwcagag agaaggtaaa ctatattcca	360

ES 2 870 533 T3

gacaggcata taaagcaatt tctcctataa ttggagttca cgaaaaattc acatatttct	420
ttttaatagt aactctcaca gcaagaacat atgtttgtaa ataatacatc acagaatctt	480
attggcagac aaggaaattc ctaaaatatt ttttactgcc acatcaatta agatatataa	540
aataccttat atagaagatg ttgacacca ggccaaacaa atcaaacaag aatagaagca	600
ctgacagtct tatttcacaaa ttggtttaac ttgtatttac aggatattgt agtaccttat	660
aaagttgatt gctgattggc cgtcttttac agaattctgt cagattgtta ttatttcttg	720
taaagattga ttcaaacaaa taaaaattgt caggattgga tatgtcctat agtgaggtgt	780
agttatgtca catgagattt ttaattacaa agaaatggaa aataaaatga gaatagaatt	840
gagactcccc tgtcacctca caaatatggt gaaatacaat gaaatttcca aagatgttaa	900
agcatataaa gttgaataat tcttattatg tattaactt acagaaattt aatttcttta	960
ctttataaga ggtagtgaag atataaaatt aattatgaag acagagtagt cttagtcaga	1020
catggcccta taaagcatat tcccattcgt tacatcaa	1058

<210> 361

<211> 1058

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 361

catgattagc tatgctactt tccactgctc ttagtatact gagaggcagc ataagtaaaa	60
ctaaaatatc tgaagatagc aatagactat ttaaagtaga agaagtatgc tatttttgtt	120
ttgttttcat ttgaaggaa atatgcaaag gtttattgag tatttcagct tctcttacag	180
taggtttttt ttgattcctt tctgtgtttg tctatgttga taaaacattg aaatgccaya	240
tagctcaaag gtcattcact taagaaatct aagtactgat aacatcttag ccccgattct	300
tcataggcat tgtaagcct attataattt tggtagagag agaaggtaaa ctatattcca	360
gacaggcata taaagcaatt tctcctataa ttggagttca cgaaaaattc acatatttct	420
ttttaatagt aactctcaca gcaagaacat atgtttgtaa ataatacatc acagaatctt	480
attggcagac aaggaaattc ctaaaatatt ttttactgcc acatcaatta agatatataa	540
aataccttat atagaagatg ttgacacca ggccaaacaa atcaaacaag aatagaagca	600
ctgacagtct tatttcacaaa ttggtttaac ttgtatttac aggatattgt agtaccttat	660
aaagttgatt gctgattggc cgtcttttac agaattctgt cagattgtta ttatttcttg	720
taaagattga ttcaaacaaa taaaaattgt caggattgga tatgtcctat agtgaggtgt	780
agttatgtca catgagattt ttaattacaa agaaatggaa aataaaatga gaatagaatt	840
gagactcccc tgtcacctca caaatatggt gaaatacaat gaaatttcca aagatgttaa	900
agcatataaa gttgaataat tcttattatg tattaactt acagaaattt aatttcttta	960

ES 2 870 533 T3

ctttataaga ggtagtgaaa atataaaatt aattatgaag acagagtagt cttagtcaga 1020
catggcccta taaagcatat tcccattcgt tacatcaa 1058

<210> 362

<211> 956

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 362

aaaacaagga acaaacaac aaaaatgtta caaccgaaca acagactttt gagtcagtgtt 60
tcaggccaag aggtgatgag ttactgtagt tgcttgagct ggttggtgaa atattacctg 120
gcaacaaaac tgaaatagaa ggtggcttag taaaatgcag attcagaatg agtgccttaa 180
ggttaaggca tataagacca aactgatttt ctttttcacg aggtcttcag gtaaggccat 240
tgtagaagat accttgtttg cgaacttcag taaattactt cacttgtctc atattttcat 300
tttcaggatg gaggcttgag attgaattgt agtgcaatta ggtaaatfff taccattttt 360
aaatataata ttaaaatatt aattataaat taccttattt gaatctggaa taatatttat 420
tgcagggcat ataatctaag ctgtaaacgt cctgtyagaa gacaacatat tcatcttgct 480
aaggtataag ctatatgact ggcactgtgc tcaactcaga gtcattgaat gaacagtatt 540
tatttaatct atgaatgaga gcacttcaag tatacagaaa gatctctcaa aagattcagc 600
cttacattgc tcataacttc aatgacttag atgaaaacct cctgaacatt tttatcagtt 660
gtataggtac cccaaatcat aagggaatgt ttatcaatta gatgatgaaa tggggatgca 720
actacatcat ggcaggctaa agcaatagaa tgactttgac aagaggaaat tacatagagg 780
cacctgagtc toctaaacca atttcaaagg tatgagaggg gggatgata aataaatagt 840
tgatagatga aaaaactcag aagttatagt tgacagcaat tttaataata tatgaaaaat 900
gtggttgac ttttagggaa aaaaacctaa taaaatctaa tggaaattag tgggtcc 956

10

<210> 363

<211> 956

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 363

ES 2 870 533 T3

caaccgaaca acagactttt gagtcatgtt tcaggccaag aggtgatgag ttactgtagt	60
tgcttgagct ggttggtgaa atattacctg gcaacaaaac tgaaatagaa ggtggccttag	120
taaaatgcag attcagaatg agtgccttaa ggtaaggca tataagacca aactgatttt	180
ctttttcagc aggtcttcag gtaaggccat tgtagaagat accttgtttg cgaacttcag	240
taaattactt cacttgtctc atattttcat tttcaggatg gaggcttgag attgaattgt	300
agtgcatta ggtaaatttt taccattttt aaatataata ttaaaatatt aattataaat	360
taccttattt gaatctggaa taatatttat tgcagggcac ataactaag ctgtaaactg	420
cctgtcagaa gacaacatat tcatcttgct aaggtrtaag ctatatgact ggcaactgtc	480
tcaactcaga gtcattgaat gaacagtatt tatttaactc atgaatgaga gcacttcaag	540
tatacagaaa gatattctca aagattcagc cttacattgc tcataacttc aatgacttag	600
atgaaaacct cctgaacatt tttatcagtt gtataggtac cccaaatcat aagggaatgt	660
ttatcaatta gatgatgaaa tggggatgca actacatcat ggcaggctaa agcaatagaa	720
tgactttgac aagaggaaat tacatagagg cacctgagtc tcctaaacca atttcaaagg	780
tatgagaggg gggatgata aataaatagt tgatagatga aaaaactcag aagttatagt	840
tgacagcaat tttaataata tatgaaaaat gtggttgac ttttagggaa aaaaaccta	900
taaaatctaa tggaaattag tggccactc atttctccac ctaggatgtt aaaaat	956

<210> 364

5

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 364

gtaaaacaca tagatcgctg tatccttggt cagtaagcta caacatactc gtatctcctg	60
aaatcctggg cttaaactga ggtctcaaag gctttgtttt gttttgttgt atggttgtat	120
ggtgagtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtttattct cctgaaattc tcctcctcac	180
ttgacttaag ctaaaagata aacgtcctct tcctttcagc cacagatggt gatggataaa	240
ttgaatgtca ttcacattat tcccttaaaa taaactctct ccctccctc tcccgtctca	300
wccttgctcc tttctttata taatgggtaa tgcgttaatg tcagcagaat agttttgggg	360
ccataatggc aagtatcacg tggatgggtt agcattgttt ttagaatgct gtgaatttgg	420
gtatatgtga gttttgggga aagttttgca actatatgtt tgttaattaa atgaggacta	480
taaagtaata taaaattatg tttctggaac atattttgga agctataaag tcatctgtat	540
ttattatcca cagacataat gtcattgttc aggtcctgca accttcttat aatcaacata	600
c	601

10

<210> 365

ES 2 870 533 T3

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 365

```

agtaagctac aacataactcg tatctcctga aatcctgggc ttaaatcgag gtctcaaagg      60
ctttgttttg ttttgttgta tggttgtatg gtgagtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt      120
gtttattctc ctgaaattct cctcctcact tgacttaagc taaaagataa acgtcctctt      180
cctttcagcc acagatggtg atggataaat tgaatgtcat tcacattatt cccttaaaat      240
aaactctctc cctcccctct cccgtctcat ccttgtccct ttctttatat aatgggtaat      300
kcgttaatgt cagcagaata gttttggggc cataatggca agtatcacgt ggatgggtta      360
gcattgtttt tagaatgctg tgaatttggg tatatgtgag ttttggggaa agttttgcaa      420
ctatatgttt gttaattaaa tgaggactat aaagtaatat aaaattatgt ttctggaaca      480
tattttggaa gctataaagt catctgtatt tattatccac agacataatg tcattgttca      540
ggtcctgcaa ccttcttata atcaacatac gtgggccccag ggattttatg tatcttcgcc      600
t                                                                                   601

```

<210> 366

10

<211> 1079

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 366

ES 2 870 533 T3

gaattttatgg tctgatggag aagggaaatca ttaaagttct atgtagtgag atatcccaa 60
 ggggtgtatt aggcttacca cactggaat ctggatagat gaagacagag tggcaggga 120
 gtcgtattaa ggttctgttt ctgctgggag ccacaggtcc tcaggaagca acaagtactg 180
 ggcagattga tactgtagct rggctctagc tctatacctc tagaataaag gttacaaact 240
 agcaacttga aagctaaacc tggccacag atatgtttta tttggctctt aactgtttt 300
 aaaaaatatt accaacattht aaaactggga agttttatga aaaaaccag acttctggat 360
 tctgttgaaa aaaaaaatca gaagatctgg caatactgag ctgacattcc tatatgacaa 420
 caattggctg gatctatgca gcttctctcc aaaaagcaaa gaatgtgttc ttgcttaaca 480
 cagtcccccac cactccctca tattctccaa tcctggacct gagcgtcatt tgctatgtat 540
 cgccatttgc catgaagttt tacactctac agaaatataa tttttttgta gaagactatg 600
 ctttaatacaa gatcaggata atataaagtg agatctgaaa gtggaaaaaa gataaatgtc 660
 caacaatgat agactggatt aagaaaatgt ggcacatata caccgtggag tactatgcag 720
 ccaaaaaaaa cgatgagttc atgtcctttg tagggacatg gatgaagctg gaaaccacca 780
 ttctcagcaa actatcgcaa ggacaaaaaa ccaaacgccg catgttctca ctcataggtg 840
 ggaattgaac aatgagaaca cttgggcaca ggaaggggaa catcacacac cgggccctgt 900
 tgtgggggtg ggggaggagg gagggatagc atttgagat atacctaag ttaaatgact 960
 agtttctggg tgcagcacac catcatggca catgtatata tatgtaacta acctgcacat 1020
 tgtgcacatg taccctaaaa cttaaagtat aattttttaa aaaagatatt ttcttatct 1079

<210> 367

<211> 501

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 367

ataaatthtct tcttccctca agaattttatg gtctgatgga gaagggaatc attaaagttc 60
 tatgtagtga gatatcccca aggggtgtat taggcttacc accactggaa tctggataga 120
 tgaagacaga gtggcaggga agtcgtatta aggttctgtt tctgctggga gccacaggtc 180
 ctcaggaagc aacaagtact gggcagattg atactgtagc tgggctctag ctctatacct 240
 ctagaataaa kgttacaaac tagcaacttg aaagctaaac ctggcccaaa gatatgtttt 300
 atttggctct tacactgttt taaaaaatat taccaacatt taaaactggg aagttttatg 360
 aaaaaaccba gacttctgga ttctgttgaa aaaaaaatc agaagatctg gcaatactga 420
 gctgacattc ctatatgaca acaattggct ggatctatgc agcttctctc caaaaagcaa 480
 agaatgtgtt cttgcttaac a 501

10

<210> 368

ES 2 870 533 T3

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 368

tgaagaagcc gacctggcttc ttgtttcttc tcatagcaaa atgcaatgag aaagagataa	60
tttgagaaaa gaaccgttta aacaaaaaga aaccaagaca taatgatttt ggaaattctc	120
agtttattca gactgcaaaa gatattaaaa taaagaaact cagtaacagg gatagataat	180
ctaaagaaaa agcctaggac acggctgtag taaccttctg tttttatacc tcagcaattt	240
gctaattgcct caaaaagatc aaaagtactc aaatataaag ggctctttga agagattaga	300
tttcctcaat caaaccaaag agcatcgagg aagcttaagg ttactgtccc tcacatatct	360
cagcagaagg caaaaataga agactgatta tctaagaaag atctctgaaa gagtctcata	420
ttatggagtg aaccctgtg gcatacatgg gagaccact tggttcttga gaattttata	480
tcaggagaaa cactgtcagt ytgattgaa aggaacagag aaaatacga attaaagaag	540
actattaaac ctccaaaatt ctggcaggaa agaagcttac acagctactc agttgcaaag	600
atctgccact tttcatatac atgaaaggac tcaggaggagg aagccacagg tttagaagga	660
aaagctaaaa gcaacatcgt attagtcttg gatctaggaa cctaatttct ctagcagaat	720
ctagaaatgg cttgggacaa gtgattgttt ttttacctag gattttctcc ctcttgaaaa	780
caggactgtc tgtaactatt atcctatgcc tgccctacca tcatatttca gaaacaggta	840
acttatgttt tcactttcaa agattcacia taaagagaaa ttgtacctca gaatggatta	900
taccagagct ttcctcatgc ataaattaaa taatttaggt tatgtgattt gaagcttttg	960
agtgggtgag gtgacatttt ggatgctgag ttggtgccgt a	1001

<210> 369

<211> 1001

10

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 369

ES 2 870 533 T3

tcttctcata	gcaaaatgca	atgagaaaga	gataatattga	gaaaagaacc	gtttaaacia	60
aaagaaacca	agacataatg	atatttgaaa	ttctcagttt	attcagactg	caaaagatat	120
taaaataaag	aaactcagta	acagggatag	ataatctaaa	gaaaaagcct	aggacacggc	180
tgtagtaacc	ttctgttttt	atacctcagc	aatttgctaa	tgctcaaaa	agatcaaaag	240
tactcaaata	taaagggtct	tttgaagaga	ttagatttcc	tcaatcaaac	caaagagcat	300
cgaggaagct	taaggttact	gtccctcaca	tatctcagca	gaaggcaaaa	atagaagact	360
gattatctaa	gaaagatctc	tgaaagagtc	tcatattatg	gagtgaaccc	ctgtggcata	420
catgggagac	ccacttggtt	cttgagaatt	ttatatcagg	agaaacactg	tcagtctgta	480
ttgaaaggaa	cagagaaaat	rcgaaattaa	agaagactat	taaacctcca	aaattctggc	540
aggaaagaag	cttacacagc	tactcagttg	caaagatctg	ccacttttca	tatacatgaa	600
aggactcaga	ggaggaagcc	acaggtttag	aaggaaaagc	taaaagcaac	atcgtattag	660
tcttggtatct	aggaacctaa	tttctctagc	agaatctaga	aatggcttgg	gacaagtgat	720
tgttttttta	cctaggatth	tctccctctt	gaaaacagga	ctgtctgtaa	ctattatcct	780
atgcctgccc	taccatcata	tttcagaaac	aggtaactta	tgttttcact	ttcaaagatt	840
cacaataaag	agaaattgta	cctcagaatg	gattatacca	gagctttcct	catgcataaa	900
ttaataaatt	taggttatgt	gatttgaagc	ttttgagtgg	gtgaggtgac	atatttggatg	960
ctgagttggt	gccgtagtga	gtccagaatt	ctgcggaact	t		1001

<210> 370

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 370

ctctagactc	ctcctgtatt	ttaatttagc	cactttttta	gggcctacaa	ttttagatct	60
ccacagggct	cttgaaactt	cttgaacctc	atcagtaaca	tgtccattag	tgccatgacc	120
caagagttct	agaacatcta	ttcagcaagt	gtgtatctgg	taagtgaata	ttccttctat	180
gtgttccctt	ttgcatcaaa	ctacacactg	tcattcctcc	tttatctcca	aaagcttgaa	240
aattcctcac	ttgtatctca	ttctttctct	cttagaaaac	tgatcacctc	tgatgaatta	300
raacggaatg	accaagcttt	gggagaggca	aaagaatctc	ggtgttaaag	actcagagtt	360
taagaagcaa	caaaaagatt	atacagatgt	gaatatgtga	ccttcctcca	ccagggcatg	420
ttgccttgga	gtaagataat	ctaagcacac	acttcatagc	ctgagaacaa	ttttggaagt	480
ctttgcttta	tggtatattta	cataaagcaa	atatggatat	ttacctaaag	gctggaccaa	540
ggcctaattc	ctctagagcc	ccttgatcat	gaacaccatt	cctgtcatga	ttcttaaggt	600
c						601

10

ES 2 870 533 T3

<210> 371

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 371

acaagctcca gccatggacg caattccttc tagaagcaaa atttatctct agactcctcc	60
tgtattttaa tttagccact ttttagggc ctacaatttt agatctccac agggctcttg	120
aaacttcttg aacctcatca gtaacatgtc cattagtggc atgaccaag agttctagaa	180
catctattca gcaagtgtgt atctggtaag tgaatattcc ttctatgtgt tcccttttgc	240
atcaaactac acactgtcat tcctccttta tctccaaaag cttgaaaatt cctcacttgt	300
rtctcattct ttctctctta gaaaactgat cacctctgat gaattagaac ggaatgacca	360
agctttggga gaggcaaaag aatctcgggtg ttaaagactc agagttaag aagcaacaaa	420
aagattatac agatgtgaat atgtgacctt cctccaccag ggcagtgtgc cttggagtaa	480
gataatctaa gcacacactt catagcctga gaacaatttt ggaagtcttt gctttatgga	540
tatttacata aagcaaatat ggatatttac ctaaaggctg gaccaaggcc taattcctct	600
a	601

<210> 372

10

<211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 372

gaagatgcac tctaattgtt tttcccagaa gctctgtagg tttagctttt acctttctgg	60
gtttgttttg ttttgttttt tgagatggag tccactcgt gtcaccacag ctggagtaca	120
atggtgcaat ctcggttcac tgcaacctcc acctccggg ttcaagcaat tcccctgtct	180
ccacctctcg agtagctggg atgggaggcg cctgccacca tacctggcta attttcatat	240
ttttagtaaa gatagggttt caccatgtta gccaggctgg tctcgaactc ctgacctcaa	300
gtgatccacc cgcctcagct tcccaaagtg ctgggattac aggcgtgagc cactgcgccc	360
agccctagct ttttggtcta tgattcctcc caaattaatt tctgtgaacc attaccttaa	420
gatgttgaga tttaatgtcc agaattctcat ttgttcacct ttgaaaatta agaaacctg	480
gcacagtgtt gactggagcc wcttacctta atagaaaata aagctcacat atatccataa	540
tgaaaagcag agaccagcac aaccatagtc acctgacagt tttaaaatcc aaggccagga	600
tcttctcaac tcaggccac tcaattactc cacaacatac ttcttctttc ctgagcatct	660
actacttgtg ctgggacctt ggtcttccca ttgttcatgt c	701

15

<210> 373

<211> 701

<212> ADN

5

<213> Homo sapiens

<400> 373

agatggagtc ccactcgtgt caccacaggct ggagtacaat ggtgcaatct cggttcactg	60
caacctccac ctcccgggtt caagcaattc ccctgtctcc acctctcgag tagctgggat	120
gggaggcgcc tgccaccata cctggctaata tttcatattt ttagtaaaga tagggtttca	180
ccatgttagc caggctggtc tcgaactcct gacctcaagt gatccacccg cctcagcttc	240
ccaaagtgct gggattacag gcgtgagcca ctgcgccag ccctagcttt ttggtctatg	300
attcctccca aattaatttc tgtgaacct taccttaaga tgttgagatt taatgtccag	360
aatctcattt gttcaccttt gaaaattaag aaaccctggc acagtgttga ctggagccac	420
ttaccttaat agaaaataaa gctcacatat atccataatg aaaagcagag accagcacia	480
ccatagtcac ctgacagttt waaaatccaa ggccaggatc ttctcaactc aggccactc	540
acttactcca caacatactt cttctttcct cagcatctac tacttgtgct gggaccttgg	600
tcttoccatt gttcatgtca ttcttttcct cacagttccc attcttttct ccctgaaata	660
aagaaatttc aaaatatacc atgtttcatg aaaaagacaa a	701

10

<210> 374

<211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 374

ES 2 870 533 T3

gatttccacc ctcaggtgat ggggatggtt gaacatccaa cacctgaaac aggacagacg 60
atattgacag tacttgtag ttgcatataa tcacagacca gtggaaacag atgaaccaca 120
cagggccaca gcggggtttc actggggaac agagtgaaca atcaggaggt gtgggaggca 180
ggttagtag tttaaagagg ttgaggtgtc cccctggatc ccatgggagg atcacattgg 240
ctcatttgaa ttatcatacg gactggcagg gaactgaaat cttctactca gggataagca 300
gaaactgtcc ctgggtttcct tgataaaaag ggttggttga taggggacct tatccatggg 360
aggaaagtga ggagggaat ttgtggctaa gccattcaag gccctcccag ttttactaga 420
tgtcaaggca gcacacgtaa tattgggact taatthtagc cacataacta ataaatttgt 480
aagtatgtgc aacggctcac rcttgcttcc agaatggcac ctaaaaaaca gatttacctc 540
tccccaaatt cagatatgga attaaatgta atgtcaggaa aattgtctaa gagttggaaa 600
tgggaaaaaa atgttctttt ggtggagtta tggactccag aggttatcag attctattga 660
ataacgtact tttgattgta tttgtaacaa ttaggctatt t 701

<210> 375

<211> 1001

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 375

gcatataatc acagaccagt ggaaacagat gaaccacaca gggccacagc ggggtttcac 60
tggggaacag agtgaacaat caggaggtgt gggaggcagg tttagtagtt taaagaggtt 120
gaggtgtccc cctggatccc atgggaggat cacattggct catttgaatt atcatacgga 180
ctggcaggga actgaaatct tctactcagg gataagcaga aactgtccct ggtttccttg 240
ataaaaaggg ttgtttgata ggggacctta tccatgggag gaaagtgagg agggaaattt 300
gtggctaagc cattcaaggc cctcccagtt ttactagatg tcaaggcagc acacgtaata 360
ttgggactta attttagcca cataactaat aaatttgtaa gtatgtgcaa cggctcacac 420
ttgcttccag aatggcacct aaaaaacaga tttacctctc cccaaattca gatatggaat 480
taaagtgaat gtcaggaaaa ytgtctaaga gttggaaatg ggaaaaaat gttcttttgg 540
tgaggttatg gactccagag gttatcagat tctattgaat aacgtacttt tgattgtatt 600
tgtaacaatt aggctatttg tgaactcggg aggggtagaa atcgagttgt agaaaatgga 660
tggtaatgca agtgattttt gaccatatca atgcaaatga attctgttgg tagaaatatt 720
catttccaca ctgtagatga ccctaaacat atgtcattac attatatttt attgccttat 780
agactattaa ccaattttga atcatacagt agcaaattta tttcagcatt cttgtgtgta 840
tgtgtttata tatacacgtg catatgtatt taagatatat aattgtatat tcttcaaatt 900
cttctttgaa caggtttgaa cctcttatta gtttcctcat taaggaaatt aataagacct 960
ttaatgcatg tttgtatttt catgagagtc attattttac c 1001

ES 2 870 533 T3

<210> 376

<211> 695

<212> ADN

5

<213> Homo sapiens

<400> 376

tgctccttca ttagtgcaat ggaacagcaa atcaggatac tttcacagtt ctcttaagtg	60
agcctagaag tggggagctg cttgttcaca aacttgaagc ctgaatatgt taatattctt	120
tcagtggccg gacgcggtgg ctcatgcctg taatcccaac actttgggag gccgaggtag	180
gcagatcaac ctgaagtcag gagtgcgagg ccagcctggc caacatggtg aaacccacc	240
tgttggctctg tactaaaaat agaaaaatta gctgggcatg gtggcgcatg cctgtaatcc	300
cagctactca ggaggctgtg gcagaagaat cgctgcacc tgggaggcag aggttgcttt	360
gagttgatat cgtgtcactg cactccagcc tgggcaacag agtgagatcc tttcagaaac	420
ctgctgtctg tatttgata caattaaaaa aaaaaaaaag atgagacagg caggtgcgaa	480
agaaataaaa gtcamaactg atccagttgg gaaactcaga attgacagtt acgtgtcctt	540
tcattttattg atattttgag attcacaggg gtttaaactt tatttttcca agactgaata	600
gttcccacct cccttcata tataaaattt gagtagctgg ggagatttaa aagaggctcc	660
ccataaactc agaagttaa agagacaagg gtccc	695

10

<210> 377

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 377

ES 2 870 533 T3

aacccacacct gttggtctgt actaaaaata gaaaaattag ctgggcatgg tggcgcatgc 60
 ctgtaatccc agctactcag gaggtctgtg cagaagaatc gcctgcacct gggaggcaga 120
 ggttgctttg agttgatata gtgtcactgc actccagcct gggcaacaga gtgagatcct 180
 ttcagaaacc tgctgtctgt atttggatac aattaaaaaa aaaaaaaga tgagacaggc 240
 aggtgcgaaa gaaataaaag tcacaactga tccagttggg aaactcagaa ttgacagtta 300
 sgtgtccttt catttattga tattttgaga ttcacagggg tttaaacttt attcttccaa 360
 gactgaatag ttcccacctc ccttccatat ataaaatttg agtagctggg gagattttaa 420
 agaggctccc cataaactca gaagttaaaa gagacaaggg tcccagtaaa taaaaaatga 480
 ttgggggttga ggaggcagat tttctgtcct cagtgaagtt tgttggttgg ttggttggtt 540
 ggttggttaa ttggttggtt tttgagtcag ggtctcactt tgtcacccaa gctggagtgc 600
 a 601

<210> 378

<211> 663

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 378

tgtagcaaca ggagggatga gacccaaagg tctgaaaagc cagtatttta agaagtcttg 60
 gaaaatgtgg aggttgaaaa atctaacagg agtgcttgct tcagcagcaa ttagagtag 120
 attagcatgg cctctgcgcc aggatgacat gcacattcct aaaagtgttc cgtgttttaa 180
 aaaaaagaga gagacagaat ctaaggggat gtgtacattt gctagagcta ctataacaaa 240
 gtaccagagg cagggtcact tcaacaacag aaatttattt ctcacagttc tggaggctag 300
 acgtccaaga ttaaggtgtt gactgggttg aattcagccc ataacaggaa ataaggagtt 360
 aaataaagca cttgcttcta ttgtttgtac ctaaacttaa cagaayacag taagtaacaa 420
 gtcattggga tgcagaaaag aaaaaagaga gtgaagggaag gagagaaggt gaaggagaa 480
 tggaagagag gaaggaggag aggaaagaaa agtttgatga atgattgcag tctaaactgg 540
 ttcaaacaag agatcttggt taattaagga attcatcca tctctgccta ttaggaggag 600
 gaaaaagtct aaaatagaag atggtgaaag ttggatgacc ccaggcatta aggccattca 660
 tct 663

10

<210> 379

<211> 662

<212> ADN

15

<213> Homo sapiens

ES 2 870 533 T3

<400> 379

ttaagaagtc ttggaaaatg tggaggttga aaaatctaac aggagtgcctt gcttcagcag	60
caatttagag tagattagca tggcctctgc gccaggatga catgcacatt cctaaaagtg	120
ttccgtgttt taaaaaaaag agagagacag aatctaaggg gatgtgtaca ttgctagag	180
ctactataac aaagtaccag aggcagggtc acttcaacaa cagaaattta tttctcacag	240
ttctggaggc tagacgtcca agattaaggt gttgactggg ttgaattcag cccataacag	300
gaaataagga gttaaataaa gcacttgctt ctattgtttg tacctaaact taacagaaca	360
cagtaagtaa caagtcattg ggatgcagaa aagaaaaaag agagtgaagg aaggagaraa	420
ggtgaaggga gaatggaaga gaggaaggga gggaggaaag aaaagtttga tgaatgattg	480
cagtctaaac tggttcaaac aagagatctt gtttaattaa ggaattcatc ccatctctgc	540
ctattaggag gaggaaaaag tctaaaatag aagatggtga aagttggatg accccaggca	600
ttaaggccat tcatctttaa ctgttatgct tggatcatgc aaatgtgtct ggtagctaca	660
ag	662

<210> 380

5

<211> 615

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 380

ttccatacat tccttccaca ccattgcctt taacctttca aattcctgct taaaactaat	60
cccattttta tggctgacct caccctgtat caaaaactcc gacatccctt tacgacagag	120
agcacaaaact agtgggtccaa aatgtcatgg gggctctctc agagttgttt tttcaatcag	180
gaaatttcac ataaaaatat ggatttctga tttctctttt aaaaacagaa aaacgagcca	240
ccagtgggag cactgcaggt atctgtgtga gaccygtact tcacaactcc tgctttccct	300
ccataaagta gcttgcatth tccacattga ctttgcagtt ctttggatc tgtattgggt	360
ttaagataat ttctactata tcacatatct cctcacagta caaagatatc attttctttc	420
ccttttcttt ttaaaaaatt tgtattttta atttttgtgg gtacacagta gatatttatg	480
gggcatatga ggtattttat aggcataata tatgtactag ggtaagtggg gtattcatca	540
cctcaagcat ttatcctttc tttgtgtaaa atatagcatt ttctgaacac tatgaatact	600
taagtacaag gatca	615

<210> 381

<211> 994

15

<212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 870 533 T3

<400> 381

tcaaagtgtgta	acaaattttcc	tttcctcata	aactagcaga	cattctatcc	cctcattatt	60
gtaacacatt	tctaatatct	ttctcaaatt	gtcttcctgt	attacaatgc	actcaccttg	120
gcttagaatg	tctgagacaa	gaaaatctat	tcaccattcc	cacagatgac	tcctcactc	180
tcctcccaag	tcttcctac	attccttcca	caccattgcc	cttaaccttt	caaattcctg	240
cttaaaacta	atcccatttt	tatggctgac	ctcacctgt	atcaaaaact	ccgacatccc	300
tttacgacag	agagcacaaa	ctagtgggtcc	aaaatgtcat	gggggtcttc	tcagagttgt	360
tttttcaatc	aggaaatttc	acataaaaat	atggatttct	gatttctctt	ttaaaaacag	420
aaaaacgagc	caccagtggg	agcactgcag	gtatctgtgt	gagacctgta	cttcacaact	480
cctgctttcc	ctccataaag	yagcttgcag	tttcacatt	gactttgcag	ttctttggta	540
tctgtattgg	ttttaagata	atttctacta	tatcacatat	ctcctcacag	tacaaagata	600
tcatttttctt	tccttttct	ttttaaaaa	tttgtatttt	taatttttgt	gggtacacag	660
tagatattta	tggggcatat	gaggtatttt	ataggcatat	aatatgtact	agggtaagtg	720
gggtattcat	cacctcaagc	atttatcctt	tctttgtgta	aaatatagca	tttctgaac	780
actatgaata	cttaagtaca	aggatcaagt	cataggattt	ggaattgatt	tttaaaatat	840
gttgacccaa	gtgctcttat	catcaaactt	aacatcacta	atgaaggatg	aacatcccaa	900
atctgaaaat	ccaaaatcca	aatgctcca	taatctaaaa	cttggtgagc	accaacatga	960
tgcttaaagg	aatgctcct	ggagcatttc	agat			994

5

<210> 382

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 382

ctatgagaaa	tattttttaa	gtggttagga	acaattcata	gcactgacat	gttatcagta	60
aaaatagaag	aaaataaatt	aatattatga	aatattaatt	atatttcatt	aattatgtaa	120
tatgaattat	gttttagctc	aaatatttcc	caagggacaa	ttaagtaaat	gaaaaataca	180
cacagattaa	aataataaat	agagaaggag	atattaatga	ggtacaaaa	gaaaaaatac	240
atgtaatcac	atgaaatgct	attatttgaa	agattaacaa	aacttgtaaa	ctacctgcta	300
acttgatcaa	agaaaaaaat	cgagaaacca	tatgcgcaat	taatagtaag	agggaataa	360

ES 2 870 533 T3

acattgaaac agaagacatt tgaataacca tataagactg ggtttcagag ctctatgtac 420
 gtaaatgat aatgtcctgg agaagtgcag atgacccaaa tggacacctt tcaacttaga 480
 aatcataaac agattcattt ycttaaagtt aatgaaaaga attaacagac cctcctcaaa 540
 aaagacatat atgcggccta caatcatatg aaaaaaagtt caacattact gttcattaga 600
 gaaatgcaaa tcaaaaccac aatgagatac catctcacac cagtcagaat ggctattatt 660
 aagaagtcaa aaaataaaaag atgctggcga ggttgtggag aaaaaagaat gcttttatac 720
 acttggtggg aatgtaaatt agttcagtca ttgtggaaga ctttgatgat tcctagaaga 780
 cctaaataca gaactactat ttgacccaac aatcccatta ctgggtatat actcaaata 840
 ctataaatca ttctattata aagacacatg catggatatg ttcattacag cactatgcac 900
 aatagcaaag acttggaatc aacatgaatg tccatcaatg atagactaga taaagaaaat 960
 gtggtacaca tataccatgg aatactatgc agccataaaa a 1001

<210> 383

<211> 1001

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 383

tcagtaaaaa tagaagaaaa taaattaata ttatgaaata ttaattatat ttcattaatt 60
 atgtaatatg aattatgttt tagctcaaatt atttcccaag ggacaattaa gtaaatgaaa 120
 aatacacaca gattaaaata ataaatagag aaggagatat taatgaggta caaaaagaaa 180
 aaatacatgt aatcacatga aatgctatta ttgaaagat taacaaaact tgtaaaactac 240
 ctgctaactt gatcaaaagaa aaaaatcgag aaaccatatg cgcaattaat agtaagaggg 300
 aaataaacat tgaaacagaa gacatttgaa ataccatata agactgggtt tcagagctct 360
 atgtacgtaa attgataatg tcctggagaa gtgcagatga ccaaaatgga cacctttcaa 420
 cttagaaatc ataaacagat tcatttcctt aaagttaatg aaaagaatta acagaccctc 480
 ctcaaaaaag acatatatgc rgctacaaat catatgaaaa aaagttcaac attactgttc 540
 attagagaaa tgcaaatcaa aaccacaatg agataccatc tcacaccagt cagaatggct 600
 attattaaga agtcaaaaaa taaaagatgc tggcgagggt gtggagaaaa aagaatgctt 660
 ttatacactt ggtgggaatg taaattagtt cagtcattgt ggaagacttt gatgattcct 720
 agaagaccta aatacagaac tactatttga cccaacaatc ccattactgg gtatatactc 780
 aaatgactat aaatcattct attataaaga cacatgcatg gatatgttca ttacagcact 840
 atgcacaata gcaagactt ggaatcaaca tgaatgtcca tcaatgatag actagataaa 900
 gaaaaatgtg tacacatata ccatggaata ctatgcagcc ataaaaatga aggagatcat 960
 gccctttgca gggacacgaa tagaggtgga ggccattatc c 1001

10

ES 2 870 533 T3

<210> 384

<211> 501

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 384

agttgcttga aagcaaagtt ctcgcagtag ctctctatct agaaggaggc attttattta	60
tgtaaggaag tcacctaaaa gaaaattcat ttgttatggt gtggctttaa gagttactta	120
cttttaaatgg aatccccag ataataataa attctgaaaa aaaaaaatca gaatcatggc	180
atgttaaaac tggatacatt cctagaaata gatggaaact gctcttgcaa aaagcttagc	240
acatgttaaa rcattttaga aacaatttgc caaagtttat ttagtctagt gatttcgaca	300
ggttaaatgg accctttgag atcttttttc ctcaagtaca aaggctcact tgcttaatga	360
acacagtccc agaaaagcag ggggctgaac cttggctcta ccattctacc taagattcta	420
gagttagcaa agggtttcca caagcccaaa ttattatggt taatcttttc aattatctgt	480
gaagcattag gttggtgcaa a	501

<210> 385

10

<211> 501

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 385

gaggcatttt atttatgtaa ggaagtcacc taaaagaaaa ttcatttggt atggtgtggc	60
tttaagagtt acttactttt aatggaatcc ccagataat aataaattct gaaaaaaaaa	120
aatcagaatc atggcatggt aaaactggat acattcctag aaatagatgg aaactgctct	180
tgcaaaaagc ttagcacatg ttaaagcatt ttagaaacaa ttgccaag tttatttagt	240
ctagtgattt ygacaggta aatggaccct ttgagatctt ttttcctcaa gtacaaaggc	300
tcacttgctt aatgaacaca gtcccagaaa agcagggggc tgaaccttg ctctaccatc	360
ttacctaga ttctagagtt agcaaagggt ttccacaagc ccaaattatt atgtttaatc	420
ttttcaatta tctgtgaagc attaggttg tgcaaaagta actgcagggt ttgacattaa	480
aactggcaaa aactgcaata a	501

15

<210> 386

<211> 703

<212> ADN

20

<213> Homo sapiens

<400> 386

gacaccagtt agcatattgt cgcgggggag aggggtggga aaggcgagag aacagcatgt	60
ggtccagagg ccatacccag atggaggctg cagtcatctc ccagtcaaa ggcaaagccc	120
aagtcaaagc catgcttccc tcttgcccac ctgctccaat gccaccaca gagagtgcgc	180
cacagctcac aggatgcagg tctggttgaa tcttaacaat aactttgtaa gggaggtgtc	240
attagctcca ttctcctggc aggaggatga ggctcaaggc agctaaaggc ttttgctgaa	300
catcaagtgg tgagccagga ctcaawgcca gatcttcttg tttccctggt aggtgtatgt	360
agcacaactg gtatctgcag actatgctgc tggaagggtc agccgtcact gttatcacag	420
cgactgctgc ctgagatatg ccagggtactg ctgcaagaag tttaacaata taagctcact	480
tgatcttcat aacatactac ctaggtacaa tcattatatt tatttgacag atacagagac	540
agaggggaca cagaaaggat tagtaacttg ccccaaacca cacagccagc aaggtgtaag	600
tgagcacctg cagtctagat gagacaccac tcaaacgtc atttttctgg cagccccgtg	660
cagttaccac agtggtcacc ccagtgggtc gctaaaggcc aag	703

5

<210> 387

<211> 704

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 387

gcatattgtc gcggggggaga ggggtgggaa aggcgagaga acagcatgtg gtccagagggc	60
cataccaga tggaggctgc agtcagctcc ccagtc aaag gcaaagccca agtcaaagcc	120
atgcttccct cttgcccacc tgctccaatg ccaccacag agagtgcgcc acagctcaca	180
ggatgcaggc ctggttgaat cttaacaata actttgtaag ggaggtgtca ttagctccat	240
tctcctggca ggaggatgag gctcaaggca gctaaaggct tttgctgaac atcaagtggc	300
gagccaggac tcaatgccag atcttcttgt ttccctgtta ggtgtwtgta gcacaactgg	360
tatctgcaga ctatgctgct ggaagggtc gccgtcactg ttatcacagc gactgctgcc	420
tgagatatgc cagggtactgc tgcaagaagt ttacaaatat aagctcactt gatcttcata	480
acatactacc taggtacaat cattatatatt atttgacaga tacagagaca gaggggacac	540
agaaaggatt agtaacttgc ccaaaccac acagccagca aggtgtaagt gagcacctgc	600
agtctagatg agacaccact caaacgtc tttttctggc agccccgtgc agttaccaca	660
gtgggtcacc cagtggtcag ctaaaggcca agcccaccgt ttct	704

<210> 388

<211> 975

15

ES 2 870 533 T3

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 388

	gacttaagac aagggggtct taatttgatt atttttttct gttttatatg atttctatga	60
	aaactacaac aaaataaagt taattctatt taagtgactt tttaatgaat tgcctttgtt	120
5	agaaaaaaaa ttaagtgttt ttgtctcact ctgtcaccca ggctggagca cagtgggtgtg	180
	atcatggctt actgcagcca tgacctcccg ggctcaggtg atcctccac ctcagcttcc	240
	caaatagatg ggactacagt tgtgtgccac aacgcctggc taatttttgt atttttttgt	300
	agagacaggg tctcaccagg ttgccaggc tgatcttgaa ctcttggt caagcgatcc	360
	accacactca gcctccctga gtgtgggat tacaggcatg agccagcgca cccagccaga	420
	attacatttt tttaaatggt actgtcctag aaaatccagg atgtgcagtg atcaygtatg	480
	aatgcatgga cctgcacaca caggagtga caaaagacct acccctgcca ggtcaccact	540
	catatctcac cccagccac gctagctcac actcctccc acacaccact gacctcatca	600
	ttgctaggtt cccacttgac ttctcaacag gttcaagaca attggccttc ctctctctt	660
	ctagaacac cctcttttct gggctttgtg taacacctg tcttctccc ctctctggcc	720
	acttctcagc ttttcttttt ctttctttct ttttttttt ttttttttg ccacttcctc	780
	ttcctctaca tcaagcttgt ccaacccaca gccaggaca gctttgaatg cagcctaaca	840
	caaattcgta agctttctta aaacattatg agatgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt	900
	gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtttagctca tcagctatcg ttattgttag tgtattttat	960
	gtgtggccca agaca	975

<210> 389

<211> 976

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 389

ES 2 870 533 T3

gacttttttaa tgaattgcct ttgttagaaa aaaaattaag tgtttttgtc tcactctgtc	60
accagaggctg gagcacagtg gtgtgatcat ggcttactgc agccatgacc tcccgggctc	120
aggtgatcct cccacctcag cttcccaaag agatgggact acagtttgtt gccacaacgc	180
ctggctaatt tttgtatttt tttgtagaga caggggtctc ccaggttgcc caggctgatc	240
ttgaactcct tggctcaagc gatccacca cctcagcctc cctgagtgtt gggattacag	300
gcatgagcca ggcacccag ccagaattac atttttttta atggtactgt cctagaaaat	360
ccaggatgtg cagtgatcac gtatgaatgc atggacctgc acacacagga gtgaacaaaa	420
gacccacccc tgccaggtca ccactcatat ctaccccag cccacgctag ctacacrtcc	480
tccccacaca ccactgacct catcattgct aggtaccac ttgacttctc aacagggttca	540
agacaattgg ccttcctcgt ctcttctaga aacaccctct tttctgggct ttgtgtaaca	600
cctgggtctt ctcccctctc tggccacttc tcagcttttc tttttctttc tttctttttt	660
tttttttttt ttttgccact tcctcttcct ctacatcaag cttgtccaac ccacagccca	720
ggacagcttt gaatgcagcc taacacaaat tcgtaagctt tcttaaaaca ttatgagatg	780
tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgttta gctcatcagc	840
tatcgttatt gttagtgtat tttatgtgtg gcccagaca tttcttcttc cagtgtggcc	900
cagggaagcc aaaagattgg acaccctgc tctacaacat ctcaatatag gcctttttca	960
tgtttcattc tagatt	976

<210> 390

5

<211> 801

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 390

ES 2 870 533 T3

atccagacgg	tgcccatact	ccctgctctg	tctagatggt	gtccacattc	cctgctccgt	60
ctagactgtg	cccatattcg	ctgctggctg	caaatgcgag	gagttgacag	cagcctcccc	120
tttacaaggc	aggaggtgcc	actgttcgcc	attgtctcca	cctagggctt	cacttgcttt	180
ctatctgcag	acatcagagg	gacccacatc	tctctgttct	gacacgctgt	gtgttgatgg	240
cagagtttaa	ttatccacat	gcaatcttac	tttccttatt	cccaagtccg	tggggctgcc	300
tcacaaaagc	attgtaagaa	ctgataacca	tcttctagaa	gtatcatagt	gatattaaga	360
acacacatca	cagatcatag	taaatggctt	taatTTTTTA	rcgaaatctc	actactgcaa	420
atgcattgtt	gtcctagcta	atgaatgcat	agagtattgc	ctgcaaaata	ataattgaga	480
ttctatTTTT	aagaagctta	gaacagtaca	tgggtgcatag	caaagactct	gtgtatgtga	540
agccagatTT	taaaatatgg	taacaagtgt	ctgaaaatat	gtggctcaat	ttgtctcccg	600
gttactTTTT	cctctcccc	tttaaatgt	agaggaagga	gaagaagaga	taagaggttt	660
gtgagtgaag	acaagggccc	tttaaggcct	gggaagacta	acgccatagg	gatctccctc	720
tgccTTaaaa	ggcacaggaa	tcttagtggg	gaaaaagaag	tgggtgataa	tagccagtcc	780
gtgtgcctgg	aatatcaaag	t				801

<210> 391

<211> 801

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 391

ccctgctccg	tctagactgt	gcccatactc	gctgctggct	gcaaatgcga	ggagttgaca	60
gcagcctccc	ctttacaagg	caggaggtgc	cactgttcgc	cattgtctcc	acctagggct	120
tcacttgctt	tctatctgca	gacatcagag	ggacccacat	ctctctgttc	tgacacgctg	180
tgtgttgatg	gcagagttaa	attatccaca	tgcaatctta	ctttccttat	tcccaagtcc	240
gtggggctgc	ctcatcaaag	cattgtaaga	actgataacc	atcttctaga	agtatcatag	300
tgatattaag	aacacacatc	acagatcata	gtaaatggct	ttaattTTTT	agcgaaatct	360
cactactgca	aatgcattgt	gtcctagct	aatgaatgca	yagagtattg	cctgcaaaat	420
aataattgag	attctatTTT	taagaagctt	agaacagtac	atgggtgcata	gcaaagactc	480
tgtgtatgtg	aagccagatt	ttaaaatatg	gtaacaagtg	tctgaaaata	tgtggctcaa	540
tttgtctccc	ggttactTTT	ccctctcccc	ctttaaaatg	tagaggaagg	agaagaagag	600
ataagaggtt	tgtgagtga	gacaagggcc	ctttaaggcc	tgggaagact	aacgccatag	660
ggatctccct	ctgccttaaa	aggcacagga	atcttagtgg	ggaaaaagaa	gtggtgataa	720
atagccagtc	cgtgtgcctg	gaatatcaaa	gtcagtgctg	gccagggatc	acactgcggg	780
tcacgtgcac	tctgggtctc	t				801

10

ES 2 870 533 T3

<210> 392

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 392

ttggcctggg gctgattcct ccaaagcaat gtgtctcttc gcagagtctc ttagagctgc	60
aaggcagtat gggatcatca gagaggatgc taggaagctt cagaaatgga ggtcctggta	120
gaaaggggtcc tttggcgtgg cctctgaaga gtccaaatgt gggacaagac cctccgaaag	180
cggtggcctg gggagccaca ggtggggcag ccagcacgga agagggtggc tttgctacca	240
ttgggaaaac ttatcctcca catcctcatg aggcaaacac ctttcctacc ttaccgctcc	300
ycagtggcct ccctgttgcc ttcttattca agactaagac cctctagaat gttctttatc	360
ctgagtccag ctgattgtct atactaatat cagtacgggg ttagatgag gacaaccagt	420
gtgcctggct gccaggcacc ccctcccaa accccaggag tttctggaac attccaactc	480
tgcttgaggg tatccatgca gcatctacta ctgtgagcag gtggtctgat ctgtggaaaa	540
cttctatgat tcacctgagg gtaactgccc tttgtgattt gaaagaatga tgctaacaga	600
a	601

<210> 393

10

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 393

15

gcagagtctc ttagagctgc aaggcagtat gggatcatca gagaggatgc taggaagctt	60
cagaaatgga ggtcctggta gaaaggggtcc tttggcgtgg cctctgaaga gtccaaatgt	120
gggacaagac cctccgaaag cggtggcctg gggagccaca ggtggggcag ccagcacgga	180
agagggtggc tttgctacca ttgggaaaac ttatcctcca catcctcatg aggcaaacac	240
ctttcctacc ttaccgctcc tcagtggcct ccctgttgcc ttcttattca agactaagac	300
yctctagaat gttctttatc ctgagtccag ctgattgtct atactaatat cagtacgggg	360
ttagatgag gacaaccagt gtgcctggct gccaggcacc ccctcccaa accccaggag	420
tttctggaac attccaactc tgcttgaggg tatccatgca gcatctacta ctgtgagcag	480
gtggtctgat ctgtggaaaa cttctatgat tcacctgagg gtaactgccc tttgtgattt	540
gaaagaatga tgctaacaga aagtgtgtgc atttctgaac ttttctgaac tctgcagcga	600
g	601

ES 2 870 533 T3

<210> 394

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 394

agatttggat ggggacacaa aaccaaacca tatcataggt taaattgtgt ctcccacccc	60
aaaaatgtgt atgttgaagt cctaaccctt agtactcaga atgtgacatt atttggaat	120
agggtcattg cagatggagt tagttaagat gaggtcatta ggatgagtc ctaatccaat	180
atgactgggt ctcttacaaa aagggaagt ttggacacag agccatgcac atgggtggga	240
agaatcccaa atgaacggat aggcagaggg ttggagagat gcatcaacaa ggaacaccaa	300
agattgccag caacccccag aagctggggg agaggcctgg aacagattct ccctcacagc	360
ctgagaggaa ccaagctggc tgacaccttg atctcaggtt accggccttg agaactgaga	420
gaccctgggt ttctgttgtt taagcctctc agggcgcagc actttattat ggaagcctga	480
gctgactaat acaggtgtct ytatatctca ctgagggaaa gtgacaggaa agtaagaacc	540
atttatgtcc aagagtccag aggagtcaac cagattctgg gggaaaagaa ggtacaatgc	600
tggcctctcc atgcagccta gtccccaaca cttgtagggc ccagggaag atctaaagca	660
ctctctcacc tatgcatcta tatgctgtaa ctcagataaa caaactatta aataatatat	720
gtgtcttgcc tctcaatctg acaattacac ctttataata gcaacatagg aaaataacta	780
aaactatgggt ttttaggcaa ccaaatacca gcaaaatgta ataattccta ttattagata	840
tgtttaagtgt ttctgctggt gggcagcat ctttggtaga gtcataaaat taaaatgtac	900
ataattaatt aaatattata tgtttattcc ctaacattta tttctgtcat ttcttttttc	960
tttttttcag acagtctcac tcttttgccc aggccggagt g	1001

<210> 395

10

<211> 1001

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 395

ttgtgtctcc caccacaaa atgtgtatgt tgaagtccta accttcagta ctcagaatgt	60
gacattatgtt ggaaatagggt tcattgcaga tggagttagt taagatgagg tcattaggat	120
gagtcacctaa tccaatatga ctggtgctct tacaaaaagg ggaagtttgg acacagagcc	180
atgcacatgg gtgggaagaa tcccaaatga acggataggc agagggttgg agagatgcat	240

15

ES 2 870 533 T3

caacaaggaa caccaaagat tgccagcaac ccccagaagc tgggggagag gcctggaaca	300
gattctccct cacagcctga gaggaaccaa gctggctgac accttgatct caggttaccg	360
gccttgagaa ctgagagacc ctgggtttct gttgtttaag cctctcaggg tgcagcactt	420
tattatggaa gcctgagctg actaatacag gtgtctctat atctcactga gggaaagtga	480
caggaaagta agaaccatth rtgtccaaga gtccagagga gtcaaccaga ttctggggga	540
aaagaaggta caatgctggc ctctccatgc agcctagtcc ccaacacttg tagggcccag	600
ggcaagatct aaagcactct ctcacctatg catctatatg ctgtaactca gataaacaaa	660
ctattaaata atatatgtgt cttgcctctc aatctgacaa ttacacctth ataatagcaa	720
cataggaaaa taactaaaac tatggthttt aggcaaccaa ataccagcaa aatgtaataa	780
ttcctattat tagatatgtt taagtgttct gctggtgggt cagcatctth ggtagagtca	840
taaaattaaa atgtacataa ttaattaaat attatatgtt tattccctaa catttatttc	900
tgtcatttct thtttcttht tttcagacag tctcactctt ttgccagggc cggagtgcag	960
tggcgtgatc tcagctcact gcaacctccg cctcccaggt t	1001

<210> 396

<211> 1218

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 396

gataaagaaa ggtcatcctc aatttcaatt tactttatat attctttgag aggtaaccgt	60
gtcttatctc cccccaaaat tcctthttaa aggaaatttc caaagatgct ctattctgtg	120
aataaagcat tgtgccacag ccgagaggat ccagcaatga acatgagatt gcccttgatt	180
cataaggctc acaagctagt aaggatagag aacactthta aataaaaaaa aatagtthtt	240
ggtatattta tatttgtgtat ttggtataat tgagtthtct acattctcat atatgtattt	300
catattthga agaatatgca gaaaataatc aagcttccaa ataaacattt thttthtaaga	360
actgcacaag tgagaattta ggagaacaga agatcagagg gctgcacrgg ctaaaactaga	420
caatgagccc atgcaagtaa gttaagagga gaagcgggta agtatgcacc tgctthgtct	480
aggtgaccag caagcattta gcaatagtct thtcaaaaca acagctcctt atattgtcaa	540
atctcaagaa gtaatattht tggthaaaaa aatctcagac ccaacagaaa atccatgagg	600
gagatggtht tggaaacgca gaattthcag ctatgatatc cthttataaa caagcagata	660
ctthcccaa atataattca atgcctcagt ctacctcctg ctgaaaccac taacaccacc	720
actaaagctc gactatatgg gaaaattthg gtgtcactth caaaatatgt cctagcataa	780
aggcaattaa aaaatgtaaa gcaccaaaga tgcaagagag acataaatga ataaaatatc	840
tggcacgaaa gthttcaaaa gcttggaat ctgattcaaa aaaaaataaa atcagccaag	900

ES 2 870 533 T3

cagtgttagt aagttagcca atcagggtttc aagaaggcag aaagacaaaa tcaacatcac	960
cagcatttga caccgctact gggggaaaaa agggggatgg agttcgttta tggccttttt	1020
aaaaatgcca ttacttggac aagagtcata acagagaagc actgcttatt tcagttctgt	1080
taactgtaaa tatcagagcc aacacccaga aaaagttcac cattagccaa ttggttttgc	1140
ctggccaatt ggagatggta ataggcctgc tatggatgac attctttctg atataagttg	1200
tttcttgctt tttctccc	1218

<210> 397

<211> 1218

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 397

gataaagaaa ggtcatcctc aatttcaatt tactttatat attctttgag aggtaaccgt	60
gtcttatctc ccccaaaat tccttttaaa aggaaatttc caaagatgct ctattctgtg	120
aataaagcat tgtgccacag ccgagaggat ccagcaatga acatgagatt gcccttgatt	180
cataaggtct acaagctagt aaggatagag aacactttta aataaaaaaa aatagttttt	240
ggtatattta tattgtgtat ttggtataat tgagttttct acattctcat atatgtattt	300
catattttga agaatatgca gaaaataatc aagcttccaa ataaacattt ttttttaaga	360
actgcacaag tgagaattta ggagaacaga agatcagagg gctgcacggg ctaaaactaga	420
caatgagccc atgcaagtaa gttaagagga gaagcgggta agtatgcacc tgctttgtct	480
aggwgaccag caagcattta gcaatagtct tttcaaaaca acagctcctt atattgtcaa	540
atctcaagaa gtaatattta tggtaaaaa aatctcagac ccaacagaaa atccatgagg	600
gagatgggtt tggaaacgca gaattttcag ctatgatatc cttttataaa caagcagata	660
ctttcccaa atataattca atgcctcagt ctacctcctg ctgaaaccac taacaccacc	720
actaaagctc gactatatgg gaaaatttag gtgtcacttt caaaatatgt cctagcataa	780
aggcaattaa aaaatgtaaa gcaccaaaga tgcaagagag acataaatga ataaaatc	840
tggcacgaaa gttttcaaaa gcttggaat ctgattcaaa aaaaaataaa atcagccaag	900
cagtgttagt aagttagcca atcagggtttc aagaaggcag aaagacaaaa tcaacatcac	960
cagcatttga caccgctact gggggaaaaa agggggatgg agttcgttta tggccttttt	1020
aaaaatgcca ttacttggac aagagtcata acagagaagc actgcttatt tcagttctgt	1080
taactgtaaa tatcagagcc aacacccaga aaaagttcac cattagccaa ttggttttgc	1140
ctggccaatt ggagatggta ataggcctgc tatggatgac attctttctg atataagttg	1200
tttcttgctt tttctccc	1218

10

<210> 398

ES 2 870 533 T3

<211> 1072

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 398

cacttaaaag ctctggaac ctacgagatt atctttaaaa tcgtggggac caaatggctg	60
gccaaggact tgtttctgta caggtgogat tgcttctctg ctgtgttcct ttttattacc	120
caagtaaccg gtatttcagc tcacaagatg agaaaatgac aaacaggcaa aataagcgta	180
gggctgtgtg tgcaacagtt watcataaag ccatcaccag gagacgtcac tgggcgcctt	240
ctggagtcta tccgtcctaa ctttgctttc tttctttttt tttttaaat taagtcttag	300
ggtacatatg cacaacgtgc aggtttgtca cacatgtata catgtgccat gttggtgtgc	360
tgcacccatt aactcgtcat ttacattagg tgtatctcct agtgctatcc ctccccactc	420
ccccgacccc atgacaggcc ccagtgtgtg atgttcccct tcctgtgtcc aagtgttctc	480
attgttcaat cccacacat gagtgagaac atgccatgtt tgggtttttg tccttgcat	540
agtttgctga gaatgatggt ttccagcttc atccatgtcc ctacaaagga catgaactca	600
tcctttttta tggctacata gtattccatg gtgtatatgt gccacathtt cttaatccag	660
tctatcatcg atggacathtt gggttggttc caagtctttg ctattgtgac tagtggtgca	720
ataaatatac gtgtggatgt gtctttatag cagtttgatt tataatcctt tgggtatata	780
cccagtaacg ggatggctgg gtcaaattgt atttctagtt ctagatcctt gaggaatcgc	840
cacactgact tccacaatgg ttgaactagt taacagtccc accaacagtg tgaaagtgtt	900
cctattttctc cacatcctct ccagcacccc attttgactt tgctataagg gaacttttagc	960
atctgaacgt gcggacagct tcattgctgg cttgttacgt aacagtgttt tgtgaccatc	1020
tcatgtcata cccacacatc gaaaccagca gtttaaatgg ccagctgttt gc	1072

<210> 399

<211> 1072

10

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 399

ES 2 870 533 T3

```

agattatctt taaaatcgtg gggaccaa at ggctggccaa ggacttggtt ctgtacaggt      60
gcgattgctt ctctgctgtg ttccttttta ttacccaagt aaccggtatt tcagctcaca      120
agatgagaaa atgacaaaca ggcaaaataa gcgtagggct gtgtgtgcaa cagtttatca      180
taaagccatc accaggagac rtcactgggc gccttctgga gtctatccgt cctaactttg      240
ctttctttct tttttttttt aaatttaagt tctagggtag atatgcacaa cgtgcagggt      300
tgtcacacat gtatacatgt gccatgttgg tgtgctgcac ccattaactc gtcatttaca      360
ttaggtgtat ctccatgtgc tatccctccc cactcccccg accccatgac aggccccagt      420
gtgtgatgtt ccccttcctg tgtccaagtg ttctcattgt tcaatcccca cctatgagtg      480
agaacatgcc atgtttggtt ttttgtcctt gcgatatgtt gctgagaatg atggtttcca      540
gcttcatcca tgtccctaca aaggacatga actcatcctt ttttatggct acatagtatt      600
ccatgggtga tatgtgccac attttcttaa tccagtctat catcgatgga catttgggtt      660
ggttccaagt ctttgctatt gtgactagtg ttgcaataaa tatacgtgtg gatgtgtctt      720
tatagcagtt tgatttataa tcctttgggt atatacccag taacgggatg gctgggtcaa      780
atgggtatttc tagttctaga tccttgagga atcgccacac tgacttccac aatgggtgaa      840
ctagttaaca gtcccaccaa cagtgtgaaa gtgttcctat ttctccacat cctctccagc      900
accccathtt gactttgcta taagggaact ttagcatctg aacgtgcgga cagcttcatt      960
gctggcttgt tacgtaacag tgttttgtga ccatctcatg tcatacccac acatcgaaac     1020
cagcagttta aatggccagc tgtttgcttg tgaaaactcc cctcggtggt ct              1072

```

<210> 400

5

<211> 948

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 400

ES 2 870 533 T3

aaatTTTctt tgctgaagtg tctTTTcaaa TTTTgcctt ttaaaaaaat tgagttgtct	60
taatatTgag tCGtaaggTt cTTtatatat tctggctata tGtcctTtGt cagatatatg	120
tcttgcaaTt atTTTctccc agtctgtggc ttacctTTTc catTTTtaaa ctgtgtTTTa	180
taaaaaaaag aagTTTTTTt agatcaaagt ccatTTTaat catTTTttct tttatagtTc	240
atgctTTTTg tGtctcatTTt aagaaatctt tccctactcc aatgtcacia atatattctc	300
tgagaagctt aacagTTTTt gcaactaaat ttaggtctat gatccgTTTT gacttaattt	360
ttccatatgg tGtcatgtaa cagttgagat TTTTtccTa tgcaggcaga tattcaatgg	420
ttcaagtacc atTTattgaa atggctatct tttctccact gaatgacctt ggcactTTTa	480
tcaaacatca actggccaca yacaggtgag tctacttctg gaccttacc ctgttccatt	540
catctgtata tctctatcct tacaccaaca cgcatagtct tgaatactag ggcaagttaa	600
TTTTaagatg tctcctggat atgtaaaaat tataTctgag ttgaactaca gTTtatttat	660
atatccaggc agcaaataaa tgtgagaatc tggaggtgag ggaagagatc agagatacca	720
ccttggaac catcaattta gagatgattc ttaaggcagg ggactaaggg aactctgta	780
ggacacagac atagagaagg gaaggggctg cggcctgaac accccacctg catgctcact	840
cacatacttt cgtcggcctg tgTTaacgaa gtgctgggtc tccccagcct ctctcatctg	900
taagcagtgc caacaacgtc caacacagtt ccatccaatt tggatctg	948

<210> 401

<211> 920

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 401

ES 2 870 533 T3

aatTTTTGCC ttttaaaaaa attgagttgt cttaatatgt agtcgtaagg ttctttatat	60
attctggcta tatgtccttt gtcagatata tgtcttgcaa atattttctc ccagtctgtg	120
gcttaccttt tccattttta aactgtgttt tataaaaaaa agaagttttt ttagatcaaa	180
gtccatttta atcatttttt cttttatagt tcatgtcttt tgtgtctcat ttaagaaatc	240
ttccctact ccaatgtcac aaatatattc tctgagaagc ttaacagttt ttgcaactaa	300
atttaggtct atgatccgtt ttgacttaat ttttccatat ggtgtcatgt aacagttgag	360
atTTTTTTCC tatgcaggca gatattcaat ggttcaagta ccatttattg aaatggctat	420
cttttctcca ctgaatgacc ttggcacttt tatcaaacat caactggcca cacacaggtg	480
agtctacttc tggacactta ycctgttcca ttcatctgta tatctctatc cttacaccaa	540
cacgcatagt cttgaatact agggcaagtt aattttaaga tgtctcctgg atatgtaaaa	600
attatatctg agttgaacta cagttttattt atatatccag gcagcaaata aatgtgagaa	660
tctggaggtg agggaagaga tcagagatac caccttgga accatcaatt tagagatgat	720
tcttaaggca ggggactaag ggacactctg taggacacag acatagagaa gggaaggggc	780
tgcggcctga acaccccacc tgcattgctca ctacatact ttcgtcggcc tgtgttaacg	840
aagtgtctgg tctccccagc ctctctcatc tgtaagcagt gccaacaacg tccaacacag	900
ttccatccaa tttgatctg	920

<210> 402

<211> 701

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 402

tgtgtgctt ccattccata ggcacctgat cctaagtgtt aaccaatccc agaactctcc	60
ccttatttct tgctgcatgt tttgaattga tgtgataaac aatgtgattc gacgtctta	120
actcagccta tgagcctctc tattctgtga ctgctggaat aggctgcttg gccatgttct	180
tggaagctac caccatatca rggtaatttc ccacacaaca ttccagcccc tgttttcccc	240
tctggcctta tctagggcca ttccccaaact caggtgaatg cagactccaa atgtactgag	300
ctgtgtgcag gggccaggtg caaatgcttt ctgtgcatct gcacatgctg ttctacctgg	360
gaagtccctt cctcctttca cctattttta ccttaaacct cagacatcat ctaccctgga	420
aagtcccttc tgacctcacg catctaagta ggtccccccc ataatcccta tccatgcctt	480
ctatagtact taacatgggtg acctttaatt gttcatttac ttagctctct gctctccac	540
actgtgaact ccttacaac agggaatgtc atctctgaat gaatctttca tctccatgta	600
acacatgcct ccaaccctac ctagcacaca atctggcata taacaggcac tcaataaacc	660
ttcaatgaat gccttgatca agtacaagga acataagcaa a	701

10

<210> 403

<211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5

<400> 403

ttaaccaatc ccagaactct ccccttattt cttgctgcat gttttgaatt gatgtgataa	60
acaatgtgat tggagcgtct taactcagcc tatgagcctc tctattctgt gactgctgga	120
ataggctgct tggccatgtt cttggaagct accaccatat cagggttaatt tcccacacaa	180
cattccagcc cctgctttcc yctctggcct tatctagggc cattcccca ctcagggtgaa	240
tgcagactcc aaatgtactg agctgtgtgc aggggccagg tgcaaatgct ttctgtgcat	300
ctgcacatgc tgttctacct gggaagtcct ttctctcttt cacctatttt taccttaaac	360
ctcagacatc atctaccctg gaaagtcctt cctgacctca cgcacttaag taggtcccc	420
ccataatccc tatccatgcc ttctatagta cttaacatgg tgacctttaa ttgttcattt	480
acttagctct ctgctctccc acactgtgaa ctcttataaa acaggggaatg tcatctctga	540
atgaatcttt catctccatg taacacatgc ctccaaccct acctagcaca caatctggca	600
tataacaggc actcaataaa ccttcaatga atgccttgat caagtacaag gaacataagc	660
aaatttcctg tggaaaaaaa gaattgtatt aagttctttg g	701

<210> 404

10

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 404

atgttcactt acacatcttt ctttcactta attgaatcct ttatttttgt cttagaatct	60
tctgaatatt gaaaacagag aactatactg gaagaacata gtgtattaag actcatggag	120
agggagatgt gatactgtgt cactgaggtc gttccagtca taggagaaat gttaccactg	180
gattgaggtc tgggtacattt taaaagatga tttaattcta tgatatgtgt tcaacttgca	240
ctaggatagt ttttactttc acctttgttc catgcaccgc gcaaatacct gggaaccctt	300
rttgcccaac tcaagagcca gagtcctctg tcatcatttt gcctctctcc taagtgcag	360
gactgagtgc agacttggtg tttgtgggtg aggcattgtg actgacaggc aggcttcagt	420
ttatttagcg agtgtgagcc ctggcaggaa gattctcttt ctctgcttgc caggttgagg	480
aggcctcatt aagcagtttg aacttggtg tttggcgtgt ctagtctggg tgcagggtggc	540
ttgggtatcct cacaggcatt tctttggcct cacccttggg gtgactgttc acttgtgttt	600
g	601

15

ES 2 870 533 T3

<210> 405

<211> 601

<212> ADN

5

<213> Homo sapiens

<400> 405

tcttctgaat attgaaaaca gagaactata ctggaagaac atagtgtatt aagactcatg	60
gagaggggaga tgtgatactg tgtcactgag gtcgttccag tcataggaga aatgttacca	120
ctggattgag gtctggtaca ttttaaaaga tgatttaatt ctatgatatg tgttcaactt	180
gcactaggat agtttttact ttcacctttg ttccatgcac cgcgcaaata cctgggaacc	240
cttgttgccc aactcaagag ccagagtcct ctgtcatcat tttgcctctc tcctaagtga	300
saggactgag tgcagacttg gtgtttgtgg gtgaggcatg tggactgaca ggcaggcttc	360
agtttattta gcgagtgtga gccctggcag gaagattctc tttctctgct tgccagggtg	420
aggaggcctc attaagcagt ttgaacttgt ggttttggcg tgtctagtcc tgggtgcagg	480
ggcttggtat cctcacaggc atttctttgg cctcaccctt ggggtgactg ttcacttgtg	540
tttgagcggc tgggactcag taggttcact ggagtaggta tttctttaga gccactggcg	600
g	601

10

<210> 406

<211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 406

ES 2 870 533 T3

cagctccttg gcaagcctgc tccttcccca gcaaattgaa acaccattct gaacacctgg 60
gcaattgtctc tgatgtccct tttcatctcc ctactctcac acaatccagc tgcctctctg 120
ccttcacacg atattaagaa cgtccaccat ctctgagtc caagcccttc tcaactcacct 180
ctttcttgaa ctaatttctt yctgtttttt tccagtcctc cttctgttc atgtctctcc 240
tctgcacact tccattttct gggtcagaaa atgtcacctg cccagtcaca cttgccttat 300
ggctgttgtg tcataaatac agttgacact tgaacaacat ggggttgaac tgcattggatt 360
cacttataca catatttttt caatacaaat atatttaaaa attttgaga ttgcaacaa 420
tttgaaaaaa cttgcagatg aacagcatag catagaaata ttgaaaaatt aagaaaaagg 480
tatgtcatga atgcataaaa catatgcaga tactagtcta ttttaacctt tactgccata 540
aaatatacac aaatctatta taaaagggtt aagtttatca aagcttatgc acacaaacac 600
ttatagacca tatagggagc cattcagtag agagaaatgt aagcgaacgt aaaggtgtgc 660
tatttaataca caactgcata cacactgtac cactgcacta a 701

<210> 407

<211> 701

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 407

gggcattgtc tctgatgtcc cttttcatct ccctactctc acacaatcca gctgcctctc 60
tgccttccac ggatattaag aacgtccacc atctcctgag tccaagccct tctcaactcac 120
ctctttcttg aactaatttc tttctgtttt tttccagtc tcccttctgt tcatgtctct 180
cctctgcaca cttccatttt stgggtcaga aaatgtcacc gtcccagtc cacttgcctt 240
atggctgttg tgtcataaat acagttgaca cttgaacaac atgggtttga actgcatgga 300
ttcacttata cacatatttt ttcaatacaa atatatttaa aaattttgga gatttgcaac 360
aatgtgaaaa aacttgcaga tgaacagcat agcatagaaa tattgaaaaa ttaagaaaaa 420
ggtatgtcat gaatgcataa aacatatgca gatactagtc tattttaacc tttactgcca 480
taaaatatac acaaattctat tataaaagggt taaagtttat caaagcttat gcacacaaac 540
acttatagac catataggga gccattcagt agagagaaat gtaagcgaac gtaaagggtg 600
gctatttaat cacaactgca tacacactgt accactgcac taatttcaga gccacctcct 660
gttgtgattg tgggtgagccc aagtgttgtg aggatctgct t 701

10

<210> 408

<211> 501

<212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 870 533 T3

<400> 408

caggtagggg	aagcaaatga	acacaaattc	aaactcggaa	ttcaaaacca	gcctctgtgt	60
attcctgagg	accatactgt	ctgctaagt	tagagaaagg	cacatcctgg	ttcaacagca	120
gagaaagcaa	acaggaggca	ctttctgtga	gtcatctcca	ccacagggcc	ctctcttttg	180
tgatccagcg	atacttggtc	acagtcaaag	cccaggaaga	gtggaaagat	taacctttgt	240
gagccaaacc	rtgtgacact	tgattacttg	acagaactaa	tccttctgtc	ctgatgacag	300
aaattcaact	acacagggtac	atgcaagcta	atatctgttg	taatgcctcc	cagtttctct	360
ggagaattcc	ttagtttctc	ggacatctct	gaaatgcaaa	gttttggaag	cgagtctctg	420
aattaacctc	tgaaaatctc	accagcccaa	gatggccttc	ttgagaagac	tgaagaacat	480
ggttggtttc	aggctgagct	g				501

5 <210> 409

<211> 604

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10 <400> 409

cactttctgt	gagtcattc	caccacaggg	ccctctctt	tgatccag	cgatactgt	60
tcacagtc	caa agcccagg	gaa gaggtaa	ag attaacct	tt gtgagccaa	ccgtgtgaca	120
cttgattact	tgacagaact	aatccttctg	tcctgatgac	agaamttaa	ctacacaggt	180
acatgcaagc	taatatctgt	tgtaatgcct	cccagtttct	ctggagaatt	ccttagtttc	240
ctggacatct	ctgaaatgca	aagttttggc	aacgagtctc	tgaattaacc	tctgaaaatc	300
tcacccagcc	aagatggcct	tcttgagaag	actgaagaac	atggttggtt	tcaggctgag	360
ctggaagtgg	tttacctccc	aggagaggtt	ccccacagt	gtgtttaagg	catgggggtg	420
accaacacca	ggaagactca	gacatcacac	caccacctt	caactcagtc	acatccacct	480
acattttctg	aaaacaaaag	gcagtctccc	caaaaagcac	tgagactctt	gtgtaggtaa	540
tctgagcaga	caccaacttc	ccagggtctc	cttttatcca	ggagagcttg	gctgttcttt	600
ttaa						604

<210> 410

15 <211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 410

ES 2 870 533 T3

ctccttccgc catggttgta agtttcctga cgccctcccag tcatgcttcc cgtacagcct 60
gcagaactgc gagtcaatga aatccctttt ctccacaaat taccagctct caggtagttc 120
cttacagcag cgtgggaaca gactcaagag ctgaagcaag caaggccgtt agcaaggagc 180
gggctgggga gagcactcca ggcagagggga acagccaggg ccagggcctt gagacagacg 240
tgagccagga tatctgagga acagcagaga agccagtgtg gccgcagcta aatgaggaac 300
aatgtgtgag ttccctgggg cggccaaaac aaacaccacg gacggggggc ttcaaccaca 360
gacaccgatt tcctcacagc tctggaggcg aaaagtccaa gaaaactgca cggagtatct 420
atgaggccct gatggagacc tgacctggtc cacacccatg gcctggcaag ctagatgggg 480
tgaattttca cctgccacag ycgcaagtca aagccaccgg cttctctctt ctccctccca 540
ttgctcctga cagccagggt taatatatttg cctcatgtaa acagggaggc atccacccga 600
gaatctcccc tcagcccaca taagctctgc agagaggggt gtgttgctcc agtcccacc 660
tggacatgag cactttgaag ggcagcttcc ctcccggggt c 701

<210> 411

<211> 612

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 411

gggctgggga gagcactcca ggcagagggga acagccaggg ccagggcctt gagacagacg 60
tgagccagga tatctgagga acagcagaga agccagtgtg gccgcagcta aatgaggaac 120
aatgtgtgag ttccctgggg cggccaaaac aaacaccacg gacggggggc ttcaaccaca 180
gacaccgatt tcctcacagc tctggaggcg aaaagtccaa gaaaactgca cggagtatct 240
atgaggccct gatggagacc tgacctggtc cacacccatg gcctggcaag ctagatgggg 300
tgaattttca cctgccacag tcgcaagtca aagccaccgg cttctctctt ctccctccca 360
ttgctcctga cagccagggt taatatatttg cctcatgtaa acagggaggc ayccacccga 420
gaatctcccc tcagcccaca taagctctgc agagaggggt gtgttgctcc agtcccacc 480
tggacatgag cactttgaag ggcagcttcc ctcccggggt ctggctgagc tcagggtagg 540
cgtcagtctg catggattgg atggaggaag gctgtgcgtg gcaggagatg aactgcct 600
tgggctgtgt gg 612

10

<210> 412

<211> 1001

<212> ADN

15 <213> Homo sapiens

ES 2 870 533 T3

<400> 412

ttggggaagg aagcactggg gggaaggaag cactgggctt gggacagggc tgggcgctgc	60
ctcttcactg gaccatgaca aggttggttac ctcaccaagg agaggtgcaa aaagcttagg	120
ggcttgatt tctagatttc agtgccaact atgccactta ctggccttat ccttggggaa	180
tttatctact ctgtgaccct cagttttttt atcttaatta ttaatacata cctcataatg	240
tgactgtgag gattcactta ataatatatg gaaaaccata gaatagtgc cagcatctag	300
gaagtgccac agcccccttc agaagctagt gaaacctgca gaccactttt cagagtgata	360
ttattatttt tttctaggtt tactgagtta taattgaaaa aataaaaaatg gaatatagat	420
gtacaacatg aagctctgat gcatatatcc attgtgaaat gatgaccaca atcaagctaa	480
ttaatgttat ctatcacttc wcatagttca accttttttt gtggtgagag tactgaagat	540
ctactctctt agcaattttc aaatctaaaa tacattatta ttaacacagt cactgtgccg	600
tacgttagct ctgaggacct tattcatttt atacctaaaa gtctgtatcc tttaaccaac	660
ctctcctaatt tcccactgt catccctact gccacctctg gtaaccagcc ttctgctctg	720
tttctgagtc caaccttctt agattccaca tatgagtgag atcatgctgt gcagtgtttg	780
tttttctgtg tctggcttgc tttcacttag cataatgtcc tccaggtcca cccatgttgt	840
tgcaaattggc agaactctct tcttggttaa gactgaataa tatccctgtg tgtgcgtgca	900
tgtgtgtgtg tgtttgtgtg tgtgtgtgta tcacattttc ttcattccatt catccatcaa	960
tggacactaa gcactaagggt tgattccgta tcttggctat t	1001

<210> 413

5

<211> 2480

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 413

ES 2 870 533 T3

aacattactt	ggggaaggaa	gcactggggg	gaaggaagca	ctgggcttgg	gacagggctg	60
ggcgtgcct	cttcaactgga	ccatgacaag	gttgttacct	caccaaggag	aggtgcaaaa	120
agcttagggg	cttggaattc	tagatttcag	tgccaactat	gccacttact	ggctttatcc	180
ttggggaatt	tatctactct	gtgacctca	gtttttttat	cttaattatt	aatacatacc	240
tcataatgtg	actgtgagga	ttcacttaat	aatatatgga	aaacataga	atagtgccca	300
gcatctagga	agtgccacag	cccccttcag	aagctagtga	aacctgcaga	ccacttttca	360
gagtgatatt	attatttttt	tctaggttta	ctgagttata	attgaaaaaa	taaaaatgga	420
atatagatgt	acaacatgaa	gctctgatgc	atatatccat	tgtgaaatga	tgaccacaat	480
caagctaatt	aatgttatct	atcacttcac	atagttcaac	ctttttttgt	ggtgagagta	540
ctgaagatct	actctcttag	caattttcaa	atctaaaata	cattattatt	aacacagtca	600
ctgtgccrta	cgttagctct	gaggacctta	ttcattttat	acctaaaagt	ctgtatcctt	660
taaccaacct	ctcctaattt	cccactgtca	tccctactgc	cacctctggt	aaccagcctt	720
ctgctctggt	tctgagtcca	accttcttag	attccacata	tgagtgagat	catgctgtgc	780
agtgtttgtt	tttctgtgtc	tggttgctt	tcacttagca	taatgtcctc	caggtccacc	840
catgttggtg	caaatggcag	aatcttcttc	ttgttaaaga	ctgaataata	tccctgtgtg	900
tgcgtgcatg	tgtgtgtgtg	tttgtgtgtg	tgtgtgtatc	acattttctt	catccattca	960
tccatcaatg	gacactaagc	actaagggtt	attccgtatc	ttggctattg	tgaataatgc	1020
tgcaataaac	atatgagtc	agatacctct	tcaagatact	gatttcattt	cctttaaata	1080
tatgccaga	agtggtattg	ctggatcata	tggtagtctt	atatttagta	tcttgaggaa	1140
tttccatact	gtttttcata	atgattgtag	caatctatat	tcccatcaac	agtgtaacag	1200
ggttccattt	tctacatggc	cttaccaacg	tttgttatca	cttatctttt	tgataataga	1260
tattctagca	ggtgtgaggt	ggtatctcat	tgtgggttta	atttgcatth	tcctgatgat	1320
tagtggtgta	gagcatcttt	tcatattccc	attggttaatt	cgtatatctt	cctttgagaa	1380
atatttattc	agatcttttg	cccattgtta	gctgagttat	atgtgagttg	gttttggttt	1440
gttggtgttt	tttggttttg	ctattgagct	gagttccttg	tatatttttg	atattaaatc	1500
cttctcagct	gtatggttga	cagatacatt	cttgcatctt	gtaagttgca	tctgtagggt	1560
gcaacagagt	ctctttactc	tggtgattgc	ttgctttact	gtgtgaaagc	tttttttagct	1620
tgatgtaatt	gtgtttgtct	atttttgctt	ttgttgcttg	tacttttagt	gtcatatcca	1680
aaaagttatt	gccagacca	gtgtcatccc	ctatgttttc	ttctagtaat	tttaaagttt	1740
caggtcttat	gtctatgtct	ttaatccatt	ttgagttaat	ttttgtgtag	ggtttaagat	1800

ES 2 870 533 T3

aagaatccaa ttttattttt attttttgta tatggatatc caatttcccc aacaccattt	1860
attgaaaatt ctatcctttc tttgttgtgt attaacatca gaataatatt tttaaataca	1920
taaaattcag aagatgacaa aggaaaccaa ttacattgaa atgcatacag agttataatt	1980
ctgaaagagc aatatatgtg cctcttttga aacacatcat atatcaaact gcagtgaccg	2040
ttctaacaac tattgcaatt tcaaagtcac gttgagtagg aggagtactt tgagattctg	2100
aaacaacgtt cttgtgctat gaaatatcca tgattttgat tggatgatgg atcccaggct	2160
ttgttaatgc tgctgtaac tggtgcttcc attccatagt tgaataaaat gcttgatata	2220
tggtggaaat tagtaaaaaa aaaaacgtat ttttttccat ccaagttcat tctcagaccc	2280
tgaagagtca cttctctgga ttctgcagca aagttcccag ctggggcagc aagatttagg	2340
caattgaaaa gaacatacac cttgttctca gtggcaaacc acatggaaag ctttaaatgt	2400
cagagaagaa ttctgccatt ttgtgactt tttttagtct ctcctaataa acaagtgtta	2460
agtgacaagc ttttcagagg	2480

<210> 414

<211> 601

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 414

ccccccccc ccccgagat ctgaggtggg catttttgaa cttaactaga taacaaaaca	60
cagctaagac aagtcctttt ctccagcaaa gatggcaatg ctctaataac tctgagcata	120
ttaaagattc tccaagactc tagcctctgc tgcaaaaaca catacaaata cctactacta	180
ctgctgctgt gatgatgatg atgacagcaa tagtgagaat attttaataa tgccaggcac	240
ggtggcaact gctttccaaa tattatcata tttaatctga tcattgccct atgaggtagg	300
ragtattctg attcccatth tataaataag gaacccgagg cttagagagc atcggtgact	360
tgttcaaggt caccacagc tgtcaagtga cagaacttcg ataaaaatcc agactccttt	420
aatggagtat ggagggaggt cagaaaacat aggaagtaag ggattgtgat tgacaatgtg	480
tccttgcaaa gggacaggtt aagagacaca agggcagctg tctgaggtgt gccattcacc	540
agcttcagga gagaagtggc aggctacctc cagctatcca gccctatcca gccaaaggaag	600
c	601

10

<210> 415

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

ES 2 870 533 T3

<400> 415

caaaacacag ctaagacaag tcctttttctc cagcaaagat ggcaatgctc taataactct	60
gagcatatta aagattctcc aagactctag cctctgctgc aaaaacacat acaaatacct	120
actactactg ctgctgtgat gatgatgatg acagcaatag tgagaatatt ttaaatatgc	180
caggcacggt ggcaactgct ttccaaatat tatcatattt aatctgatca ttgccctatg	240
aggtagggag tattctgatt cccattttat aaataaggaa cccgaggctt agagagcatc	300
rgtgacttgt tcaaggtcac ccacagctgt caagtgacag aacttcgata aaaatccaga	360
ctcctttaat ggagtatgga gggagggtcag aaaacatagg aagtaaggga ttgtgattga	420
caatgtgtcc ttgcaaaggg acaggttaag agacacaagg gcagctgtct gaggtgtgcc	480
attcaccagc ttcaggagag aagtggcagg ctacctccag ctatccagcc ctatccagcc	540
aaggaagctt gggagacatg ttagttcccg ccttcatttc catcagcaac ctcaaagcca	600
c	601

5

<210> 416

<211> 5823

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 416

ES 2 870 533 T3

tatttcaggc tttcttcttt ctatggataa gaaagctcct caggtggcaa caaaggccat	60
ttcttttgaa gcaggcatgg catgtgacga aaaaaagaca tctcagaaaa gagccaagaa	120
taagactgga gagccactgt cagagaacag aaactgggct taatcaagga acatctcttg	180
ttcccagagt aggaggctgg caatattttc tctactgaaat ttcagaattg ttatggacca	240
gtgactgctc tatgtgttca atttgttccc ttttcaaatg gaagcattta ttgcagacga	300
cctgcctctg tcccaccatt gtgtattagg tttgtagagy gtagacaact tgccttttta	360
gtttgtaggt ttctgtatca agagaagatg tgtgtgggcc taacctagat tacaggatcc	420
tggacttcaa gtctgatata atgactggat gagactttga ctgtcctaga attgggatga	480
acatatatttg ccggtgggag ggcgtgagta attgcggtta gagggcagac tgtccctcac	540
acctattcct tttcatggtg ccttcccaaa ctgcctctgg aggtggccac acaaatggct	600
ttggccattg tgaccatggg aaacttgatg cagaggctgg aaaaagcact tgcattgttc	660
tgtctcctct cttgttcctc tacaatcaca agaaatgtct aggcaggtct gagcaggccc	720
aggctcatct gccatggaag aagaatggca catggaagag ggtcacattg tcccaaccaa	780
gacgatccta gaccagccag gcccagttc atggttcaag acacatgaac atagttgcac	840
gaaccaagat tagttgtgta tggcccagac tagcagcagc acccatccaa cctacagact	900
ctgagaaata aatactagtt gtcttaagct tccaagtttc agtgtgagca ttaggtagta	960
acagttaatg aataagacag ataactattt tatctgtctg gatacttata caatgatttc	1020
tatTTTTTat tgatacataa tattttacat attgctgggg tacatgtgac attttgctac	1080
atacatagaa tgtgtaatga tccagtcagg atatctgagg tgtccatcac tttgagaatt	1140

ES 2 870 533 T3

tctcacttct	gtgtgttggg	aacaattcaa	gtcgtctctt	ctagttat	taaaatatac	1200
aatacattgt	taactgtagt	cttttttatt	gaatgacagg	acttgtacct	tttatctaac	1260
tgtatgtttg	tatctattaa	gctagttctc	tttatccctg	ccccctccta	cccactcact	1320
cttcccaacc	tctaacatgt	atcatcctat	tctatatctc	catgagatca	acttccttag	1380
ctccacata	tgagcaaaaa	catatgatgt	ttgtctttct	gtgcccgggt	tatttcactt	1440
atgacctcca	tttccatcca	tgttactata	aatgacagga	tttcattctt	tttgtggcca	1500
aacagtattt	cattgtgtat	atatactaca	ttttctttat	ccattcatcc	attgatgaac	1560
acttacgttg	attccatata	tttgctattg	tgaatggtgc	tgcaataaac	atgcacgtgc	1620
agttatccct	ttgatacact	gatttat	cttttgata	aatacccagt	agtgagattg	1680
ctggatcata	cggtagttct	acttttagtt	tttgagacat	ttccatactt	ttccagtgtt	1740
tgtattaatt	tacattccca	tcaacaatgt	ataagatttc	cctttcctcc	acatcctcac	1800
cagcatctgc	tattttttgt	ctttttaata	atagtcattc	taactggggt	gagaggatat	1860
ctcgcctatg	ttttgatttg	catttccctg	atatttaatg	atattgagca	tttcttcata	1920
taacctattg	gccatttgtg	tgtctttttt	tttttttttt	ttttttttga	gaattgtcta	1980
ctcatttttg	gcttttttaa	agatttat	tttgtgttg	ttgagtttag	tgcatatcct	2040
ggatattagt	ctcttatctg	atgaagagt	tgccaatatt	ttctcccatt	caacagggtg	2100
tctcttcatt	ctgttgactg	tttcctttgc	tgtgcagaag	cactttatat	acagtcccat	2160
ttgtctat	tttagtagtc	tatgcattta	aggtctcagc	cacaaaatct	ttgcctagac	2220
cagtcctaaa	gtgtttcccc	tatat	tctagtagtt	ttattgtttc	atgtcttata	2280
tttaagtcta	taatccattg	tgagttgatt	tttgtatatg	gtgagatagg	ggccttgttt	2340
cattcctctg	catatagata	tttaattttc	tcagcaccat	ttattgaagg	tgctcctccc	2400
tattgtatgt	tcttggtgcc	tttgtcaaaa	ttcagttggc	tataaatatg	tgaatttatt	2460
tctgggttct	ctatgtgggt	ccattagtct	atgtgtctat	ttttatacca	atatcatgct	2520
gttttgatta	ccatagcctt	gtaatatatt	ttgaagtcag	gtagtgtgat	gcctccagct	2580
ttgttctttt	tgctcaggat	tgctgtgcat	actctggctt	tttggttaca	tacaaatttc	2640
aggatttttg	tatttctgtg	aaaaatggca	ttagtatttt	gataggaatt	gcactggatc	2700
tgtatattgt	cctggacaac	atggtcattt	taacaatatt	aattcttcta	atctatgagt	2760
atgagacgtc	ttcccacttg	tttgtgtcct	cttcaatttc	tttcattggg	gtttcataat	2820
ctcccttcta	caggcctttc	acctccttgg	ttaaattaat	tcctaggtat	ttttttgtag	2880
ctactgtaaa	tgggactgcc	ttctttctca	gctagttcat	ttttggtgca	tagaaaccct	2940
atttttgtat	gttcattttc	tatcctgcaa	cattacccaaa	tttgcttata	agctttaagt	3000

ES 2 870 533 T3

gtgtatatttg	ctttgcttgt	agagtcttct	ggtttctcta	aatgtaagac	gatgtcatct	3060
gcaaacgggg	acaatttgac	ttcctcttaa	aaatctgtat	gccttttatt	cctttctctt	3120
gcctgattgc	tctggctcta	cctccagtac	tatactgaat	aaaagtggta	aaagtgagca	3180
tccttccttg	tcttgctcta	gttcttagag	gaaatacttt	cagtttttcc	ccactcagta	3240
tgatgttagc	tgtgggtcat	atatagcctt	tattatgtta	agatatgttt	cttctgtacc	3300
tggtttggtg	acagcttttt	atcataaaag	gatgtagaat	tttatcaaat	gttttttctg	3360
catctgttga	gataatcata	tggtttttgt	cattccttct	actgttgtga	tgtatcatgt	3420
ttattgattt	gtgtatgtta	aaccatcctt	gtgtccttgg	tataaattat	acttggtcat	3480
ggtgtattat	ctttttggca	tcctgtcgaa	ttgtttgcta	gcctttttgtt	ttgttctttt	3540
tgagaatttt	tatgtctagg	ttccttagaa	acactggcct	gtagtctctt	ttttgtgtgt	3600
gtgtccttgt	ctagtttggg	gtcagggaaa	tgggtgtcct	gtagaatgag	ttgttttttc	3660
tttgattttt	ttgcaagagt	ttgaggagaa	tgggtattag	ttcttcttta	tgtggttggg	3720
caaattggca	gtgaattcat	tcagtcatga	gccttttctt	ttttgggagg	gttctcatta	3780
ctgagttaat	cacactgctc	attactgata	tgttcagatt	ttctatttct	tctggaatct	3840
cagtagttgt	atgtttccag	caatttatcc	atttcctcta	ggttttctag	tttggttagta	3900
tatagctatt	cataatagtc	tctgatgata	ttttgtattt	ctgtgatata	agttgtaatg	3960
tctttttcat	ttcctatttt	atttgggtct	tttcttgttt	agtctagcaa	ggggtttata	4020
tattttatct	ttttgaagaa	ccaacttttt	gtttcattga	ccctttctac	gtcttttagtc	4080
tttatttcat	ttagatttgc	tctgaacttt	actatgtcct	tccttctaata	tttgggtttg	4140
gtttgttctt	ttctagttcc	ttgaggtgca	tcattgaatt	gtttctttga	tatctatcta	4200
ctcatttgat	gtaggtgttt	attgtataac	actctcccct	cctagagctc	cttttgttgt	4260
gtcccatagg	tcttggtatg	ttgtttctat	tttcatttgt	ttcaaacatt	ttatttccat	4320
attaattttt	atcattcagg	aggagcatat	tatttaattc	ccatgtattt	gtatagtttc	4380
caaagtccct	cttatttcta	tttttactcc	attgtgggtc	gagaagatac	ttcatatgat	4440
ttcaattttt	aaaaatttgt	caagacttgt	tttttgtcct	aacatatggg	ctatcctgga	4500
gaatgttcca	tgtgctgatg	agaaaaatgt	gtactcagca	gttggtgagt	aacatgttct	4560
acaaatatct	gttagatcca	tttgggtctaa	agtctagttt	aaatccaatg	agtttttgtt	4620
aattttgtct	agatgatcat	gatctgagac	tgaggtgaag	tccccaacaa	ttatcgtgtt	4680
ggagtctacc	tctcttttta	aatctagaaa	tatttgcttt	ataaatccgg	gtgggtctagt	4740
gttgggtgca	tatatattagt	tgttatttcc	tcattagatt	gatctcttta	ctattatata	4800
ataactgttt	actgcttctg	gcataaagtc	tgttttatgt	aagtacagcc	attcctgctt	4860
gagtttagta	ccatgttgac	aaagggatgc	atagagagtt	ggtaaagcat	gatttctggg	4920

ES 2 870 533 T3

tgtctgtgtg aaggtgtttt gagaagagtt tagcatgagt ctgtggagtg agtggaaga	4980
ttctccctca atgtcagcag gaaccatcca tccactgggg gccaggtag aaaaagatga	5040
agaaatggtg aattctctct ctctcctgga gctgggtcac ccttcttctg cccttgaaca	5100
ggacatcaca actccaggct ctccagcctt tggactccaa gactgacacc agtgcccctc	5160
cccaattacc ccaggccctc aggccttttg cctaggattg agacttacac catcagcttc	5220
cctggttctg aggccttctg acttgcactg ggccatacta ccagcatccc agggctctcca	5280
gcttgagag agcctgttgt gggacttttc agcctccata atcaagtaag ccaatttccc	5340
tggatatctat atagatatac aatcatgttt tgcttaccag cctgaaaaat gtatcgctag	5400
atgagtctgt cattgcataa acatcatagt gtacttacac aaacctagat tctatagcct	5460
actacacacc tagtctataa acatgtacag catgttactg tactgaatat ttaggcaac	5520
tgtaacacaa tgggtgaatat ttgcatatct aaacatatct tatcattaaa aagatacagt	5580
aaacataagg tataaaagac aaaaaccggc acacctatat agggcactta ccataaatgc	5640
agcttgagcag actagaagtc actcagggtg agtcagtgag cgaacgtgaa ggcctaggtt	5700
attactgtcc actacggtag actttatcaa cactgtacac aggcctacact aaattttattt	5760
tttaaaaatt tgctctccaa taataaatta atcttcgcat cctttttttg ttgttctctg	5820
tgg	5823

<210> 417

<211> 5823

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 417

tatttcaggc tttcttcttt ctatggataa gaaagctcct caggtggcaa caaaggccat	60
ttctttggaa gcaggcatgg catgtgacga aaaaagaca tctcagaaaa gagccaagaa	120
taagactgga gagccactgt cagagaacag aaactgggct taatcaagga acatctcttg	180
ttcccagagt aggaggctgg caatattttc tccactgaaat ttcagaattg ttatggacca	240
gtgactgctc tatgtgttca atttgttccc ttttcaaattg gaagcattta ttgcagacga	300
cctgcctctg tcccaccatt gtgtattagg tttgtagagt gtagacaact tgccttttta	360
gtttgtaggt ttctgtatca agagaagatg tgtgtrggcc taacctagat tacaggatcc	420
tggacttcaa gtctgatata atgactggat gagactttga ctgtcctaga attgggatga	480
acatatatttg ccgggtgggag ggcgtgagta attgcgggta gagggcagac tgtccctcac	540
acctattcct tttcatggtg ccttcccaaa ctgcctctgg aggtggccac acaaatggct	600
ttggccattg tgaccatggg aaacttgatg cagaggctgg aaaaagcact tgcattgttc	660
tgtctcctct cttgttcctc tacaatcaca agaaatgtct aggcaggctc gagcaggccc	720

ES 2 870 533 T3

aggctcatct gccatggaag aagaatggca catggaagag ggtcacattg tcccaaccaa	780
gacgatccta gaccagccag gccccagttc atggttcaag acacatgaac atagttgcac	840
gaaccaagat tagttgtgta tggcccagac tagcagcagc acccatccaa cctacagact	900
ctgagaaata aatactagtt gtcttaagct tccaagtttc agtgtgagca ttaggtagta	960
acagttaatg aataagacag ataatcattt tatctgtctg gatacttata caatgatttc	1020
tatTTTTtTat tgatacataa tattttacat attgtctggg tacatgtgac attttgctac	1080
atacatagaa tgtgtaatga tccagtcagg atatctgagg tgtccatcac tttgagaatt	1140
tctcacttct gtgtgttggg aacaattcaa gtcgtctctt ctagttattt taaaatatac	1200
aatacattgt taactgtagt cttttttatt gaatgacagg acttgtacct tttatctaac	1260
tgtatgtttg tatctattaa gctagttctc tttatccctg cccctccta cccactcact	1320
cttcccaacc tctaacatgt atcatcctat tctatatctc catgagatca acttctttag	1380
ctccacata tgagcaaaaa catatgatgt ttgtctttct gtgcccggtt tatttcactt	1440
atgacctcca tttccatcca tgttactata aatgacagga tttcattctt tttgtggcca	1500
aacagtattt cattgtgtat atatactaca ttttctttat ccattcatcc attgatgaac	1560
acttacgttg attccatatac tttgctattg tgaatggtgc tgcaataaac atgcacgtgc	1620
agttatccct ttgatacact gattttattt cctttggata aatacccagt agtgagattg	1680
ctggatcata cggtagttct acttttagtt tttgagacat ttccatactt ttccagtgtt	1740
tgtattaatt tacattccca tcaacaatgt ataagatttc cctttcctcc acatcctcac	1800
cagcatctgc tattttttgt ctttttaata atagtcattc taactggggt gagaggatat	1860
ctcgtatagg ttttgatttg catttccctg atatttaatg atattgagca tttcttcata	1920
taacctattg gccatttgtg tgtctttttt tttttttttt ttttttttga gaattgtcta	1980
ctcatttttg gctttttaaa agatttattt tttgttggtg ttgagtttag tgcatacct	2040
ggatattagt ctcttatctg atgaagagtt tgccaatatt ttctccatt caacaggttg	2100
tctcttcatt ctgttgactg tttcctttgc tgtgcagaag cactttatat acagtcccat	2160
ttgtctattt tttagtagtc tatgcattta aggtctcagc cacaaaatct ttgcctagac	2220
cagtcctaaa gtgtttcccc tatattttct tctagtagtt ttattgtttc atgtcttata	2280
tttaagtcta taatccattg tgagttgatt tttgtatatg gtgagatagg ggccttggtt	2340
cattcctctg catatagata ttttaatttc tcagcaccat ttattgaagg tgccttccc	2400
tattgtatgt tcttggtgcc tttgtcaaaa ttcagttggc tataaatatg tgaatttatt	2460
tctgggttct ctatgtggtt ccattagtct atgtgtctat ttttatacca atatcatgct	2520
gttttgatta ccatagcctt gtaatatatt ttgaagtcag gtagtgtgat gcctccagct	2580

ES 2 870 533 T3

ttgttctttt	tgctcaggat	tgctgtgcat	actctggcct	tttggttaca	tacaaatttc	2640
aggatttttg	tatttctgtg	aaaaatggca	ttagtatttt	gataggaatt	gcactggatc	2700
tgtatattgt	cctggacaac	atggtcattt	taacaatatt	aattcttcta	atctatgagt	2760
atgagacgtc	ttcccacttg	tttgtgtcct	cttcaatttc	tttcattggg	gtttcataat	2820
ctcccttcta	caggcctttc	acctccttgg	ttaaattaat	tcctagggat	ttttttgtag	2880
ctactgtaaa	tgggactgcc	ttcttttcta	gctagtccat	ttttgtgca	tagaaaccct	2940
atttttgtag	gttcattttc	tatcctgcaa	cattacccaa	tttgcttata	agctttaagt	3000
gtgtattttg	ctttgcttgt	agagtcttct	ggtttctcta	aatgtaagac	gatgtcatct	3060
gcaaacgggg	acaatttgac	ttcctcttaa	aaatctgtat	gccttttatt	cctttctctt	3120
gcctgattgc	tctggctcta	cctccagtac	tatactgaat	aaaagtggta	aaagtgagca	3180
tccttccttg	tcttgctcta	gttcttagag	gaaatacttt	cagtttttcc	ccactcagta	3240
tgatgttagc	tgtgggtcat	atatagcctt	tattatgtta	agatatgttt	cttctgtacc	3300
tggtttggtg	acagcttttt	atcataaaa	gatgtagaat	tttatcaaat	gttttttctg	3360
catctgttga	gataatcata	tggtttttgt	cattccttct	actgttggtg	tgtatcatgt	3420
ttattgattt	gtgtatgtta	aaccatcctt	gtgtccttgg	tataaattat	acttggtcat	3480
ggtgtattat	ctttttggca	tcctgtcgaa	ttgtttgcta	gctttttgtt	ttgttctttt	3540
tgagaatttt	tatgtctagg	ttccttagaa	acactggcct	gtagtctctt	ttttgtgtgt	3600
gtgtccttgt	ctagtttggt	gtcagggaaa	tgggtgtcct	gtagaatgag	ttgttttttc	3660
tttgattttt	ttgcaagagt	ttgaggagaa	tgggtattag	ttcttcttta	tgtggttggg	3720
caaattggca	gtgaattcat	tcagtcatga	gcttttcttt	ttttgggagg	gttctcatta	3780
ctgagttaat	cacactgtct	attactgata	tggtcagatt	ttctatttct	tctggaatct	3840
cagtagttgt	atgtttccag	caatttatcc	atttcctcta	ggttttctag	tttggtagta	3900
tatagctatt	cataatagtc	tctgatgata	ttttgtattt	ctgtgatata	agttgtaatg	3960
tctttttcat	ttcctatttt	atttgggtct	tttcttggtt	agtctagcaa	ggggtttata	4020
tattttatct	ttttgaagaa	ccaacttttt	gtttcattga	ccctttctac	gtcttttagtc	4080
tttatttcat	ttagatttgc	tctgaacttt	actatgtcct	tccttctaata	tttgggtttg	4140
gtttgttctt	ttctagttcc	ttgaggtgca	tcattgaatt	gtttctttga	tatctatcta	4200
ctcatttgat	gtaggtgttt	attgtatata	actctcccct	cctagagctc	cttttggtgt	4260
gtcccatagg	tcttggtatg	ttgtttctat	tttcatttgt	ttcaaacatt	ttatttccat	4320
attaattttt	atcattcagg	aggagcatat	tatttaattc	ccatgtattt	gtatagtttc	4380
caaagttcct	cttatttcta	tttttactcc	attgtgggtc	gagaagatac	ttcatatgat	4440
ttcaattttt	aaaaatttgt	caagacttgt	tttttgcct	aacatatggg	ctatcctgga	4500

ES 2 870 533 T3

gaatgttcca tgtgctgatg agaaaaatgt gtactcagca gttgttgagt aacatgttct	4560
acaaatatct gttagatcca tttggtctaa agtctagttt aaatccaatg agtttttgtt	4620
aattttgtct agatgatcat gatctgagac tgagggtgaag tccccaacaa ttatogtggt	4680
ggagtctacc tctcttttta aatctagaaa tatttgcttt ataaatccgg gtggtctagt	4740
gttggtgca tatatttagt tgttatttcc tcattagatt gatctcttta ctattatata	4800
ataactgttt actgcttctg gcataaagtc tgttttatgt aagtacagcc attcctgctt	4860
gagtttagta ccatgttgac aaagggatgc atagagagtt ggtaaagcat gatttctggg	4920
tgtctgtgtg aagggtgttt gagaagagtt tagcatgagt ctgtggagtg agtgggaaga	4980
ttctccctca atgtcagcag gaaccatcca tccactggg gcccaggtag aaaaagatga	5040
agaaatggtg aattctctct ctctcctgga gctgggtcac ccttcttctg cccttgaaca	5100
ggacatcaca actccaggct ctccagcctt tggactccaa gactgacacc agtgcccctc	5160
cccaattacc ccaggccctc aggcctttgg cctaggattg agacttacac catcagcttc	5220
cctggttctg aggccttctg acttgccactg ggccatacta ccagcatccc agggctctcca	5280
gcttgccagag agcctgttgt gggacttttc agcctccata atcaagtaag ccaatttccc	5340
tggtatctat atagatatac aatcatgttt tgcttaccag cctgaaaaat gtatogctag	5400
atgagtctgt cattgcataa acatcatagt gtacttacac aaacctagat tctatagcct	5460
actacacacc tagtctataa acatgtacag catgttactg tactgaatat tgtaggcaac	5520
tgtaacacaa tgggtgaatat ttgcatattt aaacatatct tatcattaaa aagatacagt	5580
aaacataagg tataaaagac aaaaaccggc acacctatat agggcactta ccataaatgc	5640
agcttgccag actagaagtc actcaggggtg agtcagtgag cgaacgtgaa ggcctaggtt	5700
attactgtcc actacggtag actttatcaa cactgtacac aggcctacact aaatttattt	5760
tttaaaaatt tgctctccaa taataaatta atcttcgcat cctttttttg ttgttctactg	5820
tgg	5823

<210> 418

<211> 707

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 418

aacggtgtca gctggagtga actcctgtgt gtgcaaggcc tgggtctcct ggtcagacta	60
ctttctatgg gaaaggcata gtgtatagtc tatatactat acataggggt gctgggagga	120
actgggggtt tcacagccag ctttggtttt cattaggttt gtttagtttc cattgcttca	180
ggggtgttag ttttgtgttc mcaactagat tataaactcc tcttgcatc ctgatggcag	240
tgacttgaag gcattttattt gaagaataat agacatacag aaaggggcgc atgtcataaa	300

ES 2 870 533 T3

ggtagacgctg gacgactttt cacaaagtga gcacatttgt atgatcgatg ttgagaccaa 360
gagcattcag tggacaactc ctttccagtt actccacccc actcccagtg accatcattc 420
tgacttctaa ctgtgtagac atgttttgct tgttttgtac tttaaaaca tatctactct 480
attttaggtg gctagacaat gtgttttaca atgctggcca tgacagtgtt tgaagaata 540
aaatggaatc aaatagaatg ggcagtatca gagtgtgttg cctgcctaag aaatgttttg 600
tgacattttg gctttgggtc tatttacaca ttaaactctaa gagcaccaga atgtgggtgc 660
aaaatgtgtt tggggatgaa gatattctaa agtcctgtag taagcaa 707

<210> 419

<211> 712

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 419

cagactactt tctatgggaa aggcatagtg tatagtctat atactataca taggggtgct 60
gggaggaact ggggttttca cagccagctt tgggtttcat taggtttgtt tagtttccat 120
tgcttcaggg gtgttagttt tgtgttccca actagattat aaactcctct tgcattcctg 180
atggcagtg cttgaaggca tttatttgaa gaataataga catacagaaa ggggcrcatg 240
tcataaaggt acagctggac gacttttcac aaagttagca catttgtatg atcgatgttg 300
agaccaagag cattcagtgg acaactcctt tccagttact ccacccact cccagtgacc 360
atcatttctga cttctaactg tgtagacatg ttttgcttgt tttgtacttt acaaacatat 420
ctactctatt ttaggtggct agacaatgtg ttttacaatg ctggccatga cagtgtttga 480
aagaataaaa tggaatcaaa tagaatgggc agtatcagag tgtgttgctt gcctaagaaa 540
tgttttgtga ctttttggtt ttgggtctat ttacacatta aatctaagag caccagaatg 600
tggtgtcaaa atgtgttttg ggatgaagat attctaaagt cctgtagtaa gcaatgcaaa 660
acgttctgga ggtgtttatt aaacatttgt ttgtagaatg gagaggaaga ca 712

10

<210> 420

<211> 1210

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 420

ES 2 870 533 T3

aaagcagcac tgctctgcat tcagccttgc tacgtctcct tcagatgggc gcactagata	60
ctgagtgatg atcatgcctt gtctaggatc tcaccaagac agttcatgaa agagacagtg	120
cagctcatgg aggagatggg gcagctcaca gagaggatgg tgccatcatg gaaagcatgg	180
ggcagtcatg gagatgacgg rgtagctcat ggagaatata atgccatcat ggaaggcata	240
gtgcagtcac ggagatgatg gtgcagctca tggagaagat ggtgccatca tgggaaggcat	300
ggtgcaatca tggagtagac agtgcagctg ggccaagatt ctccctgact aagctcttct	360
caggcacctc tgagccgtcg tcttaactag gcctccagct tggcttgtga aaactgcaga	420
ctctcagcac aaatgatttg cctcctacat taagagactt aaataaacac ttgcatggct	480
gtgtttatth aaacagctca aggtgtgtc cctgggatga caatgactcc agcccctaaa	540
attcctgctt gtgaaagctc attgctgaca gaaggatcta ccatttgctc cagccaacac	600
ctgggtggcag gcagataggc cctgagcccc atttaagagc agttccttta gaaagcttgc	660
aattgtaaat cttttctctg cccatttgag atgtaaatct tctaccacct agaactgtct	720
tctcaaggac ctgtgagctg actcactgaa atgcaaacat tcagggagat aactccactc	780
ctgtcccat gcgacggcga ggcctgact ttggtgggca ccttgctctt atttgacca	840
ccacctcctg tcctaaagac atgagacgtt tgtctctcct ctggataagt gcctattaac	900
caaccacagg gtccctgtca catgaaccag tccagcctag cacctggcac tgcctttccc	960
tcagcacact ccagtctgta aaagtctcct tatggttgtt ttggcaaagt tgagcttagt	1020
taatgctaga ccccttctct actgcaatag ttactgctga ataaagtcta tccttaccac	1080
tttaactagt gttgggcttt gtttctcttt cataagctca tggagaagac aatgcagttc	1140
catcaagttt ctggctctta cactgctaac agtcagctct ggggtccctg agagggacag	1200
actcacacca	1210

<210> 421

5

<211> 1194

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 421

ES 2 870 533 T3

gcattcagcc ttgctacgtc tccttcagat gggcgacta gatactgagt gatgatcatg	60
ccttgtctag gatctcacca agacagttca tgaaagagac agtgcagctc atggaggaga	120
tgggtgcagct cacagagagg atggtgccat catggaaagc atggggcagt catggagatg	180
acggagtagc tcatggagaa kataatgcca tcatggaagg catagtgcag tcatggagat	240
gatggtgcag ctcatggaga agatggtgcc atcatggaag gcatggtgca atcatggagt	300
agacagtgca gctgggccaa gattctccct gactaagctc ttctcaggca cctctgagcc	360
gtcgtcttaa ctaggcctcc agcttggtt gtgaaaactg cagactctca gcacaaatga	420
tttgccctct acattaagag acttaaataa acacttgcat ggctgtgttt atttaaacag	480
ctcaaggctg tgtccctggg atgacaatga ctccagcccc taaaattcct gcttggtgaa	540
gctcattgct gacagaagga tctaccattt gttccagcca acacctggtg gcaggcagat	600
aggccctgag ccccatthta gagcagttcc tttagaaagc ttgcaattgt aaatcttttc	660
tctgcccatt tgagatgtaa atcttctacc acctagaact gtcttctcaa ggacctgtga	720
gctgactcac tgaaatgcaa acattcaggg agataactcc actcctgtcc ccatgcgacg	780
gcgaggccct gactttggtg ggcaccttgc tcttatttgc accaccacct cctgtcctaa	840
agacatgaga cgtttgtctc tcctctggat aagtgcctat taaccaaccc aggtgtcctg	900
gtcacatgaa ccagtcacgc ctacacctg gcaactgcctt tccctcagca cactccagtc	960
tgtaaaagtc tccttatggt tgttttggca aagttgagct tagttaatgc tagaccctt	1020
ctctactgca atagttactg ctgaataaag tctatcctta ccactttaac tagtggtggg	1080
ctttgtttct ctttcataag ctcatggaga agacaatgca gttccatcaa gtttctggct	1140
cttacactgc taacagtcag ctctggggtc cctgagaggg acagactcac acca	1194

<210> 422

5

<211> 1194

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 422

ES 2 870 533 T3

gcattcagcc ttgctacgtc tccttcagat gggcgacta gatactgagt gatgatcatg 60
ccttgtctag gatctcacca agacagttca tgaaagagac agtgcagctc atggaggaga 120
tggtgcagct cacagagagg atggtgccat catggaaagc atggggcagt catggagatg 180
acggagtagc tcatggagaa kataatgcca tcatggaagg catagtgcag tcatggagat 240
gatggtgcag ctcatggaga agatggtgcc atcatggaag gcatggtgca atcatggagt 300
agacagtgca gctgggccaa gattctccct gactaagctc ttctcaggca cctctgagcc 360
gtcgtcttaa ctaggcctcc agcttggtt gtgaaaactg cagactctca gcacaaatga 420
tttgccctct acattaagag acttaaataa acacttgcat ggctgtgttt atttaaacag 480
ctcaaggctg tgtccctggg atgacaatga ctccagcccc taaaattcct gcttgtaaa 540
gctcattgct gacagaagga tctaccattt gttccagcca acacctggtg gcaggcagat 600
aggccctgag ccccatttaa gagcagttcc tttagaaagc ttgcaattgt aaatcttttc 660
tctgccatt tgagatgtaa atcttctacc acctagaact gtcttctcaa ggacctgtga 720
gctgactcac tgaaatgcaa acattcaggg agataactcc actcctgtcc ccatgcgacg 780
gcgaggccct gactttggtg ggcaccttg cttattttgc accaccacct cctgtcctaa 840
agacatgaga cgtttgtctc tcctctggat aagtgcctat taaccaaccc aggtgtcctg 900
gtcacatgaa ccagtccagc ctacgacctg gcaactgcctt tccctcagca cactccagtc 960
tgtaaaagtc tccttatggt tgttttggca aagttgagct tagttaatgc tagaccctt 1020
ctctactgca atagttaactg ctgaataaag tctatcctta ccactttaac tagtggtggg 1080
ctttgtttct ctttcataag ctcatggaga agacaatgca gttccatcaa gtttctggct 1140
cttacactgc taacagtcag ctctggggtc cctgagaggg acagactcac acca 1194

<210> 423

<211> 1118

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 423

ES 2 870 533 T3

accaagacag ttcatgaaag agacagtgca gctcatggag gagatggtgc agctcacaga 60
 gaggatggtg ccatcatgga aagcatgggg cagtcattga gatgacggag tagctcatgg 120
 agaagataat gccatcatgg aaggcatagt gcagtcattg agatgatggt gcagctcatg 180
 gagaagatgg tgccatcatg raaggcatgg tgcaatcatg gagtagacag tgcagctggg 240
 ccaagattct ccctgactaa gctcttctca ggcacctctg agccgtcgtc ttaactaggc 300
 ctccagcttg gcttgtgaaa actgcagact ctcagcacia atgatttgcc tcctacatta 360
 agagacttaa ataaacactt gcatggctgt gtttatttaa acagctcaag gctgtgtccc 420
 tgggatgaca atgactccag cccctaaaat tcctgcttgt gaaagctcat tgctgacaga 480
 aggatctacc atttgttcca gccaacacct ggtggcaggc agataggccc tgagccccat 540
 ttaagagcag ttcccttaga aagcttgcaa ttgtaaatct tttctctgcc catTTgagat 600
 gtaaatcttc taccacctag aactgtcttc tcaaggacct gtgagctgac tcaactgaaat 660
 gcaaacattc agggagataa ctccactcct gtcccatgac gacggcgagg ccctgacttt 720
 ggtgggcacc ttgctcttat ttgcaccacc acctcctgtc cttaaagacat gagacgtttg 780
 tctctcctct ggataagtgc ctattaacca acccaggtgt cctggtcaca tgaaccagtc 840
 cagcctagca cctggcactg cctttccctc agcacactcc agtctgtaaa agtctcctta 900
 tgggtgtttt ggcaaagtgt agcttagtta atgctagacc ccttctctac tgcaatagtt 960
 actgctgaat aaagtctatc cttaccactt taactagtgt tgggctttgt ttctctttca 1020
 taagctcatg gagaagacia tgcagttcca tcaagtttct ggctcttaca ctgctaacag 1080
 tcagctctgg ggtccctgag agggacagac tcacacca 1118

<210> 424

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 424

gtaggggcac tgtctatact ggctgcactc tggccagtgc tgtcccaacg ctgaccctc 60
 tggaagctaa tctggcttat aatgaggatg ctttcttttag aggggactct ccatgcacag 120
 cagaaaatcc caatggagtgt gttcttcctt atgtcccaa gggactggga atattctttc 180
 agtaacaatg gccattggg ggaagaagga tgaaagtggg gtgagagacg tgaaatttgg 240
 agaggtccct caaagattgt gatgtgcctc tcttgttcca atcacaggac aggggtataa 300
 yggctttcct ttgaaacacg gggatgaatt taactattca cttcccagggt agattcatca 360

ES 2 870 533 T3

gggtctagag cttcagctaa cagcatgagg aagattccaa atgtgcccc atcagcatag 420
 gaactgggta tggtgagtct atggtctcat aaaaccagaa gaaggacaag ggattgtggc 480
 tccaggcttg ggagcacctt ttccttacca tgggctacag tatttattta gggtaaagga 540
 aggaaactcc tgaggtgcta tggggtgcca gcaatttga gcatcagtaa ttcaatgtcc 600
 c 601

<210> 425

<211> 601

5

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 425

acgtgaccc ctctggaagc taatctggct tataatgagg atgctttctt tagaggggac 60
 tctccatgca cagcagaaaa tccaatgga gtggttcttc cctatgtccc caagggactg 120
 ggaatattct ttcagtaaca atggccatt gggggaagaa ggatgaaagt ggggtgagag 180
 acgtgaaatt tggagaggtc cctcaaagat tgtgatgtgc ctctcttgtt ccaatcacag 240
 gacaggggta taacggcttt cctttgaaac acggggatga atttaactat tcacttccca 300
 rgtagattca tcagggctta gagcttcagc taacagcatg aggaagattc caaatgtgcc 360
 cccatcagca taggaactgg gtatgttgag tctatggtct cataaaacca gaagaaggac 420
 aagggattgt ggctccaggc ttgggagcac cttttcctta ccattgggcta cagtatttat 480
 ttagggtaaa ggaaggaaac tcctgaggtg ctatggggtg ccagcaattt ggagcatcag 540
 taattcaatg tcccttcagc catgtgtatt caactcctgc tgtgggtgtg gacttgggtgc 600
 a 601

10

<210> 426

<211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 426

ES 2 870 533 T3

ttcctgggca	togtcatatt	ctgtaaaaca	aggaagctca	gccagtggtg	ttctaactg	60
acctcctttc	tacatcctta	ggtgttggtta	tgcgtgaatc	acgtccccc	aaaagacatg	120
ttcatgtcct	aacccccagg	acctcagaat	gtgtgatctg	gtttggaaat	aaggatcatca	180
cagatgaaat	tagctaagac	aaggtcatat	tggaataggg	ttggccctta	atccactgtg	240
actggtgtcc	ttttaagaag	aggacacaga	cacaggaggg	gagagggcc	tgggatgatg	300
caggtggaga	ctggagtgtc	acagctgcaa	gcaaatacat	ttctgtgtctg	tgaagccacc	360
catttggtgg	tactacgtta	aaacagctct	aggaaattaa	tacagatggt	gcctgtattt	420
ttgtttctca	tattactact	cattgtttta	atgatgactg	ttttattcat	taagttgaaa	480
gctcctaaag	cagagggacc	rtatttttat	gtcccaactc	tccttaaggc	cttgcctatg	540
atagcacatc	tcttcaatag	aattgtccta	actttaacag	agacaacttg	ggttatttaa	600
tatggagaac	aaagggttaa	gctggtgcc	gatgggtttc	atcttctcta	aatctggaac	660
caaaggcagc	aagtctatgg	ggtggacgga	gttcttagct	c		701

<210> 427

5

<211> 701

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 427

caaggaagct	cagcccagtg	tgttctaaca	tgacctcctt	tctacatcct	taggtgttgt	60
tatgogtgaa	tcacgtcccc	ccaaaagaca	tgttcatgtc	ctaaccacca	ggacctcaga	120
atgtgtgatc	tggtttgaa	ataaggtcat	cacagatgaa	attagctaag	acaaggtcat	180
attggaatag	ggttgccct	taatccactg	tgactggtgt	ccttttaaga	agaggacaca	240
gacacaggag	gggagagggc	catgggatga	tgcagggtga	gactggagtg	ctacagctgc	300
aagcaaatac	atttctgtgc	tgtgaagcca	cccatttggg	ggtactacgt	taaaacagct	360
ctaggaaatt	aatacagatg	ttgcctgtat	ttttgtttct	catattacta	ctcattgttt	420
taatgatgac	tgttttattc	attaagttga	aagctcctaa	agcagaggga	ccatattttt	480
atgtcccaac	tctccttaag	sccttgcccta	tgatagcaca	tctcttcaat	agaattgtcc	540
taactttaac	agagacaact	tgggttattt	aatatggaga	acaaagggtt	aagctggtgc	600
cagatgggtt	tcatcttctc	taaatctgga	accaaaggca	gcaagtctat	ggggtggacg	660
gagttcttag	ctcaaccctt	tgggtgaggta	agaagaagga	t		701

10

REIVINDICACIONES

1. Un método de determinación de la fracción de ácidos nucleicos fetales en una muestra materna que comprende una mezcla de ADN genómico fetal y materno, en donde la muestra materna es una muestra de plasma y en donde dicho ADN genómico fetal y materno es ADN sin células (ADNsc), comprendiendo dicho método:
 - 5 (a) amplificar una pluralidad de ácidos nucleicos polimórficos diana en dicha mezcla, comprendiendo cada una de dicha pluralidad de ácidos nucleicos diana polimórficos al menos un sitio de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), de forma que se amplifiquen al menos 40 sitios de SNP diferentes de los ácidos nucleicos diana polimórficos, en donde al menos un sitio de SNP es informativo, y en donde dicha pluralidad de ácidos nucleicos polimórficos diana se localiza en una pluralidad de cromosomas diferentes;
 - 10 (b) realizar secuenciación masiva en paralelo de al menos una porción del producto amplificado obtenida en (a), en donde dicha secuenciación comprende proporcionar una pluralidad de marcas de secuencia; y
 - (c) basándose en dicha secuenciación, determinar dicha fracción, en donde:
 - (i) dicha fracción se determina basándose en el número total de marcas que cartografían un primer alelo y el número total de marcas que cartografían un segundo alelo en un sitio de SNP informativo contenido en
 15 un genoma de referencia; y
 - (ii) el sitio de SNP informativo se identifica por la diferencia en las secuencias alélicas y la cantidad de cada uno de los posibles alelos.
2. El método de la reivindicación 1, en donde cada una de dicha pluralidad de ácidos nucleicos diana polimórficos comprende un único sitio de SNP.
- 20 3. El método de la reivindicación 1, en donde el genoma de referencia es un genoma de secuencias diana artificial que comprende las secuencias de los ácidos nucleicos diana polimórficos.
4. El método de la reivindicación 3, en donde el genoma de referencia es un genoma de referencia de SNP artificial.
5. El método de la reivindicación 1, en donde la amplificación de la pluralidad de ácidos nucleicos diana polimórficos se lleva a cabo usando pares de cebadores cada uno de los cuales es capaz de amplificar una secuencia de ácidos
 25 nucleicos diana que comprende un sitio de SNP en una reacción de PCR múltiple.
6. El método de la reivindicación 5, en donde el método comprende combinar al menos 2, al menos 3, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más conjuntos de cebadores en la misma reacción para cuantificar los ácidos nucleicos diana amplificados que comprenden al menos dos, al menos tres,
 30 al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más sitios de SNP en la misma reacción de secuenciación.
7. El método de la reivindicación 1, en donde el porcentaje de fracción fetal se calcula para al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más alelos informativos.
- 35 8. El método de la reivindicación 7, en donde la fracción fetal es la fracción fetal promedio determinada para al menos 3 alelos informativos.
9. El método de la reivindicación 1, en donde dicha secuenciación es: (i) secuenciación por síntesis con terminadores reversible con colorante; (ii) secuenciación por ligación; o (iii) secuenciación de molécula única.
10. El método de la reivindicación 1, en donde dicha secuenciación comprende una amplificación.
- 40 11. El método de la reivindicación 1, en donde dicha secuenciación es secuenciación por hibridación, en donde la hibridación comprende poner en contacto la pluralidad de secuencias de polinucleótidos con una pluralidad de sondas de polinucleótidos, en donde cada una de la pluralidad de sondas de polinucleótidos se puede unir opcionalmente a un sustrato, y en donde el patrón de hibridación con las sondas de polinucleótidos se puede usar para determinar las secuencias de polinucleótidos presentes en la muestra.
- 45 12. El método de la reivindicación 11, en donde el sustrato es una superficie plana que comprende una matriz de secuencias de nucleótidos conocidas.
13. El método de la reivindicación 1, en donde dicho método es un método independiente del sexo del feto.
14. El método de la reivindicación 1, en donde dicha pluralidad de ácidos nucleicos polimórficos diana contiene un número suficiente de sitios de SNP de forma que al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al
 50 menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al

menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o más sean informativos.

15. El método de la reivindicación 1, en donde:

(i) la pluralidad de ácidos nucleicos polimórficos se localiza en los cromosomas 1-22; o

5 (ii) la pluralidad de ácidos nucleicos polimórficos se localiza en una pluralidad de cromosomas diferentes distintos de los cromosomas 13, 18, 21, X o Y.

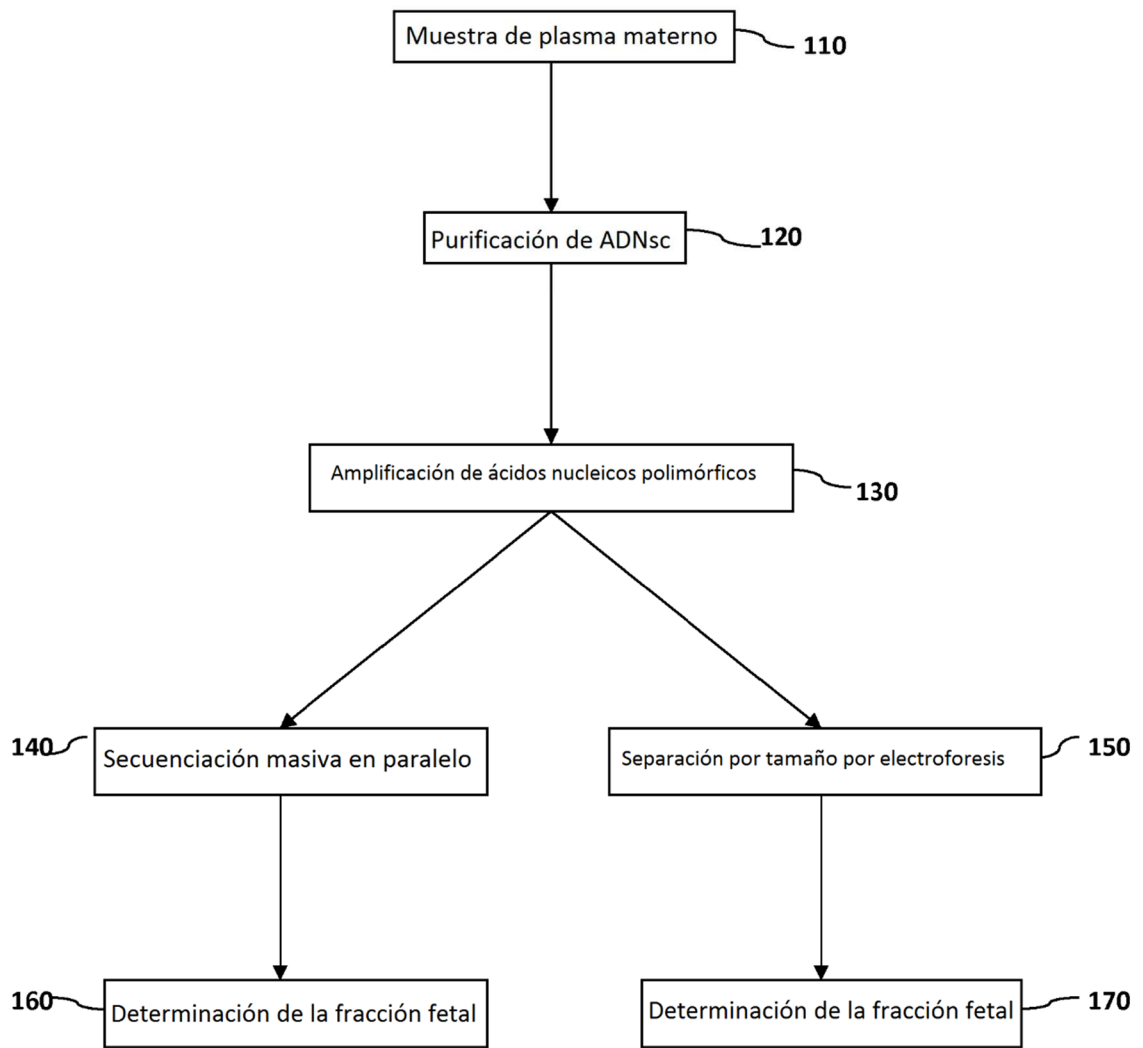


FIGURA 1

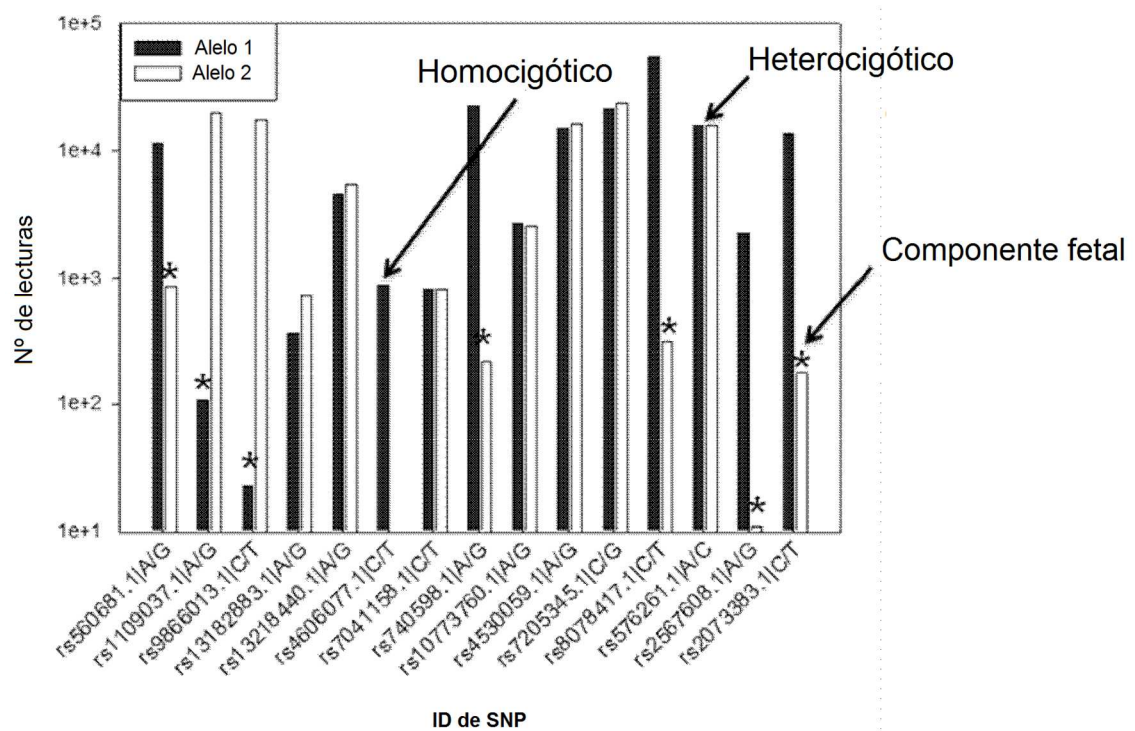


FIGURA 2

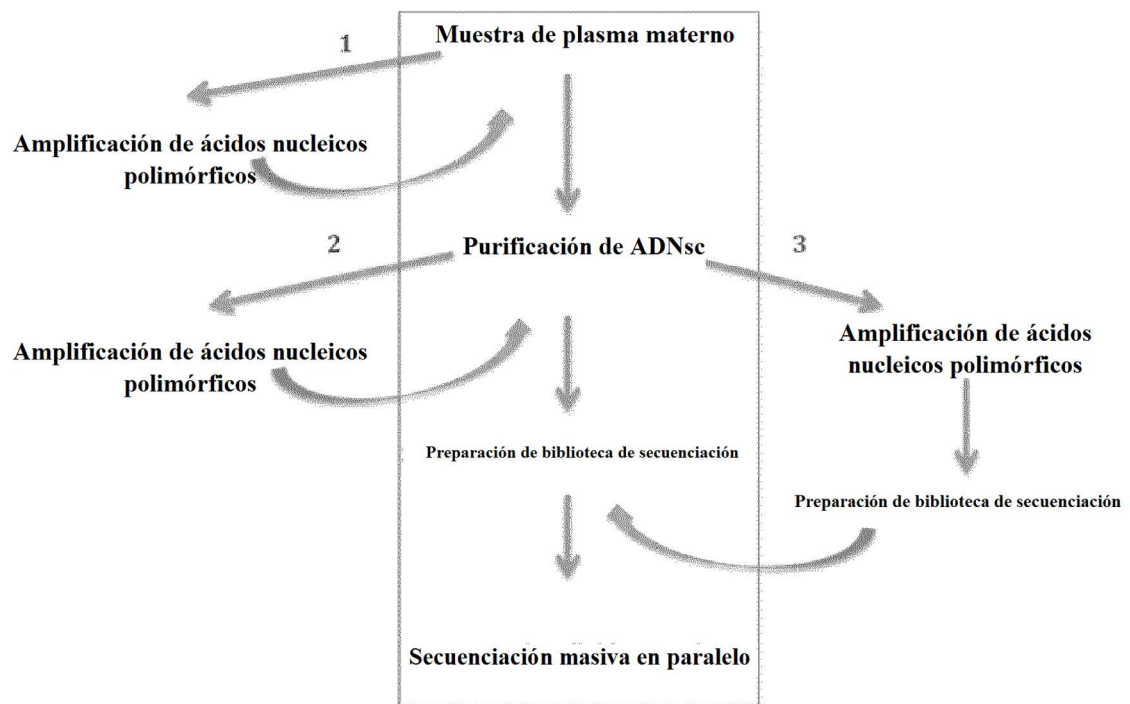


FIGURA 3

Loci amplificados: Designación de locus	Localización de cromosomas	Alelos incluidos en la escalera alélica identificadora	Marca de colorante	ADN de control 9947A
D8S1179	8	8, 9 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	6-FAM	13a
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38		30b
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 11
CSF1PO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 12
D3S1358	3p	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	VIC	14, 15
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3		8, 9.3
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		11c
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		11, 12
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28	NED	19, 23
D19S433	19q12-13.1	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2		14, 15
vWA	12p12-pter	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24		17, 18
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13		8d
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27		15, 19
Amelogenina	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y	PET	X
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16		11e
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2		23, 24

FIGURA 4

ES 2 870 533 T3

Loci amplificados: Designación de locus	Localización de cromosomas	Alelos incluidos en la escalera alélica identificadora	Marca de colorante	ADN de control 9947A
D8S1179	8	8, 9 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	6-FAM	13a
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38		30b
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 11
CSFIPO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 12
D3S1358	3p	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	VIC	14, 15
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3		8, 9.3
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		11c
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		11, 12
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28	NED	19, 23
D19S433	19q12-13.1	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2		14, 15
vWA	12p12-pter	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24		17, 18
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13		8d
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27		15, 19
Amelogenina	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y	PET	X
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16		11c
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2		23, 24

FIGURA 5

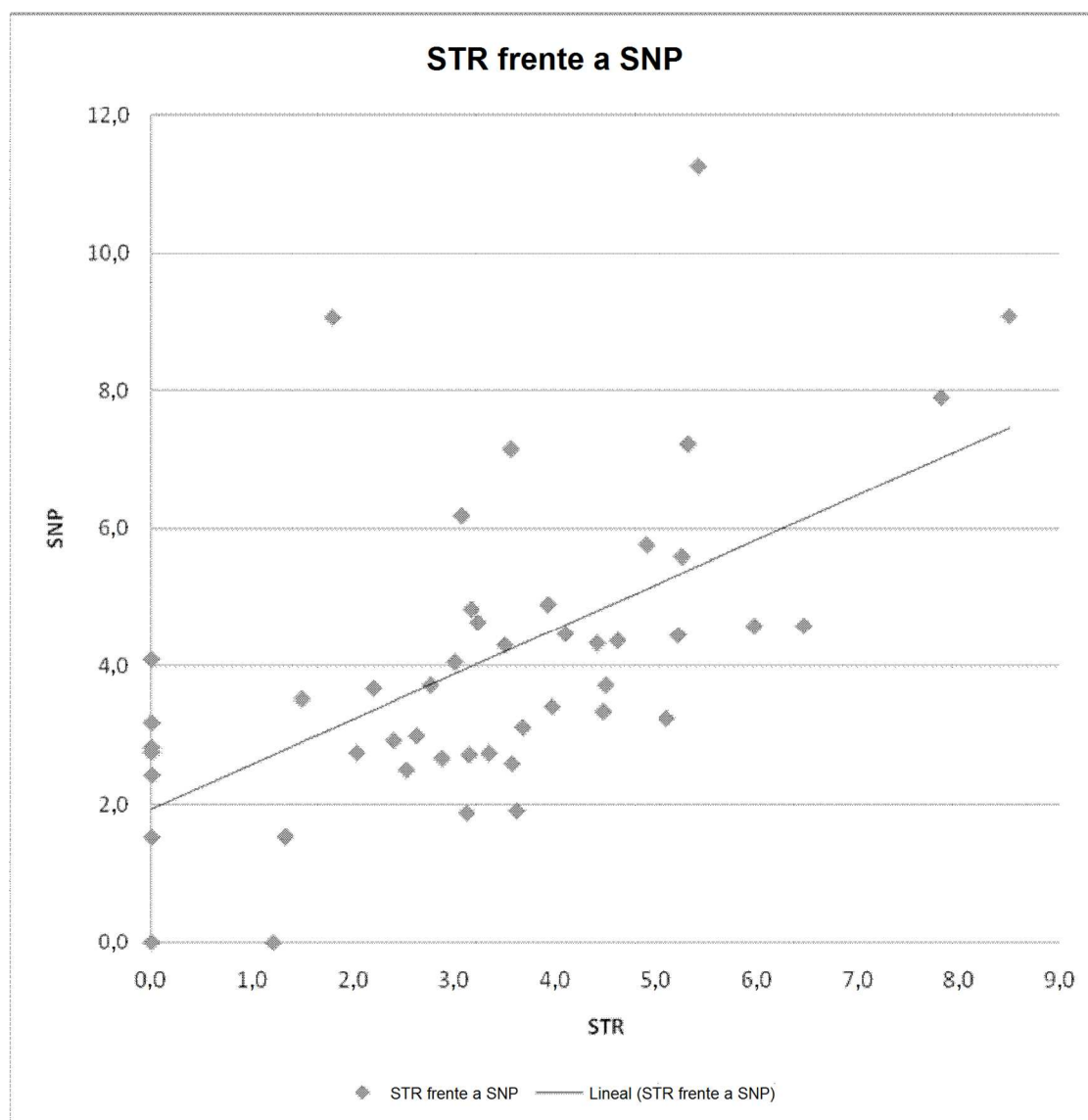


FIGURA 6

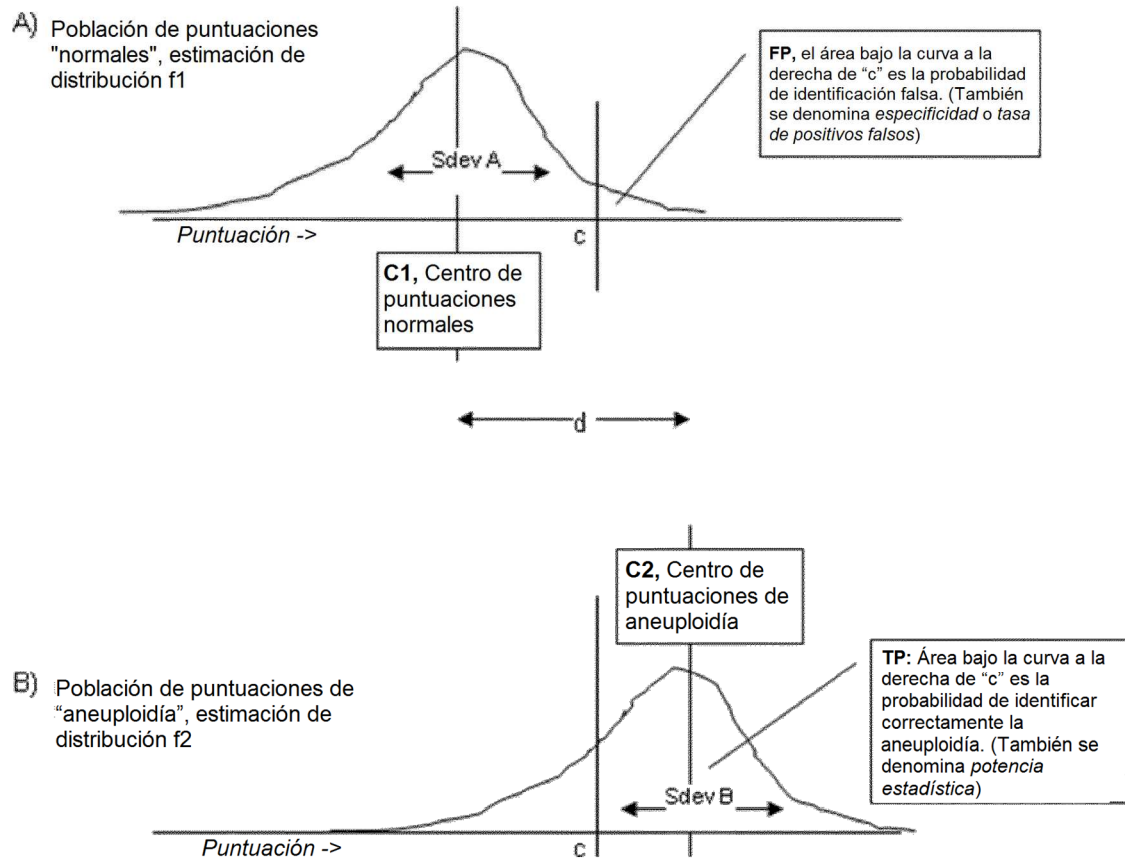


FIGURA 7